GEN-PROBE

APTIMA

APTIMA Neisseria gonorrhoeae Assay

Zur Verwendung in der *In-vitro*-Diagnostik.

Nur zum US-Export.

Allgemeine Informationen 2

Verwendungszweck 2
Zusammenfassung und Testerklärung 2
Testprinzip 3
Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen 4
Lagerungs- und Handhabungsbedingungen für Reagenzien 7
Probenentnahme und -lagerung 8

Testauswertung — Qualitätskontrolle/Patientenergebnisse 38
Einschränkungen 41
Ergebnisse von klinischen Studien 43
Sollwerte mit DTS-Systemen 44
Klinische Leistung der DTS-Systeme 47
Klinische Probenübereinstimmung mit dem TIGRIS DTS System 65
Analytische Leistung des TIGRIS DTS Systems 70
Analytische Leistung des PANTHER Systems 74
Literatur 76

DTS SYSTEMS

DTS-Systeme 10
Im Lieferumfang enthaltene Reagenzien und Materialien 10
Erforderliche, jedoch nicht im Lieferumfang enthaltene Materialien 11
Optionale Materialien 12
Testverfahren mit DTS-Systemen 13
Verfahrenshinweise 19

TIGRIS DTS

TIGRIS DTS System 23
Im Lieferumfang enthaltene Reagenzien und Materialien 23
Erforderliche, jedoch nicht im Lieferumfang enthaltene Materialien 24
Optionale Materialien 25
Testverfahren mit dem TIGRIS DTS System 25
Verfahrenshinweise 29

PANTHER

PANTHER System 31
Im Lieferumfang enthaltene Reagenzien und Materialien 31
Erforderliche, jedoch nicht im Lieferumfang enthaltene Materialien 32
Optionale Materialien 33
Testverfahren mit dem PANTHER System 33
Verfahrenshinweise 36

Allgemeine Informationen

Verwendungszweck

Der APTIMA Neisseria gonorrhoeae Assay ist ein Targetamplifikationstest mithilfe von Nukleinsäuresonden, der Target Capture zum qualitativen *In-vitro*-Nachweis von ribosomaler RNA (rRNA) aus *Neisseria gonorrhoeae* (GC) verwendet und als Hilfsmittel bei der Diagnose von durch Gonokokken ausgelösten Urogenitalkrankheiten mithilfe des TIGRIS DTS Systems, des PANTHER Systems oder der halbautomatischen Geräteder DTS Systems wie angegeben dient. Der Assay kann für Tests mit den folgenden Probentypen von symptomatischen Personen verwendet werden: vom Arzt entnommene endozervikale, vaginale und männliche urethrale Abstrichproben sowie weibliche und männliche Urinproben. Der Assay kann für Tests mit den folgenden Probentypen von asymptomatischen Personen verwendet werden: vom Arzt entnommene endozervikale, und vaginale Abstrichproben, von der Patientin (selbst) durchgeführte vaginale Abstriche[1] sowie weibliche und männliche Urinproben. Dieser Assay ist auch zum Test von gynäkologischen Proben von symptomatischen und asymptomatischen Patientinnen bestimmt. Diese in Fläschchen mit PreservCyt-Lösung gesammelten endozervikalen Proben können sowohl vor als auch nach der Papanicolaou-Bearbeitung getestet werden. Der Test von Proben nach der Papanicolaou-Bearbeitung ist ausschließlich auf Proben beschränkt, die mit dem ThinPrep 2000-System bearbeitet wurden.

[1] Von den Patienten (selbst) durchgeführte vaginale Abstriche sind eine Diagnoseoption für Frauen, bei denen anderweitig keine gynäkologische Untersuchung indiziert ist. Das Vaginaltupfer-Probenentnahmekit ist nicht für den Gebrauch zu Hause bestimmt.

Zusammenfassung und Testerklärung

Neisseria gonorrhoeae-Infektionen gehören zu den weltweit häufigsten sexuell übertragbaren Infektionen. Allein in den Vereinigten Staaten wurden den Centers for Disease Control im Jahre 2010 schätzungsweise 309.341 Neuinfektionen mit GC (100,8 pro 100.000 Einwohner) gemeldet (2).

N. gonorrhoeae ist der Erreger von Gonorrhö. *Neisseria* sind unbewegliche, Gram-negative Diplokokken. Der Großteil der Gonorrhöinfektionen sind unkomplizierte Infektionen des unteren Genitaltrakts, die asymptomatisch sein können. Wenn sie bei Frauen jedoch unbehandelt bleiben, können sie aszendieren und entzündliche Beckenerkrankungen (pelvic inflammatory disease, PID) verursachen. PID kann sich als Endometritis, Salpingitis, Beckenperitonitis und Tuboovarialabszess manifestieren. Bei einem kleineren Prozentsatz von Personen mit Gonokokkeninfektionen kann sich eine disseminierte Gonokokkeninfektion (Disseminated Gonococcal Infection, DGI) entwickeln (8, 11).

Die herkömmliche Diagnose von GC-Infektion erfordert eine Isolierung des Organismus auf selektiven Mitteln oder die Beobachtung von Diplokokken in nach Gram gefärbten Ausstrichen (9). Die Kulturmethoden können eine gute klinische Sensitivität aufweisen, sind aber hochgradig abhängig von der vorschriftsmäßigen Probenhandhabung. Die falsche Probenlagerung und falscher Probentransport kann zum Verlust der Lebensfähigkeit des Organismus führen und falsch negative Testergebnisse produzieren. Außerdem können eine unsachgemäße Probenentnahme, toxisches Probenmaterial und die Wachstumshemmung durch Bestandteile der Körpersekrete ebenfalls zu falsch negativen Testergebnissen führen (3, 10). Häufig verwendete Nicht-Kultur-Verfahren zur GC-Dektektion umfassen direkte DNA-Sondentests und Nukleinsäure-Amplifikationstests (nucleic acid amplification tests, NAATs).

NAATs der ersten Generation für GC waren mit technologischen Problemen verbunden, die sich einschränkend auf ihre Leistung auswirkten. Zu diesen Problemen gehören eine umständliche Probenbearbeitung und eine Hemmung der Proben, die falsch negative Testergebnisse produzieren kann (6). Der APTIMA Neisseria gonorrhoeae Assay (APTIMA GC Assay) ist ein NAAT der zweiten Generation, der die Technologien Target Capture, transkriptionsvermittelte Amplifikation (Transcription-Mediated Amplification, TMA) und Hybridisierungsschutzassay (Hybridization Protection Assay, HPA) zur Rationalisierung der Probenbearbeitung, zur Target-rRNA-Amplifikation und zum Nachweis von Amplikon verwendet. Studien zum Vergleich der Leistung und Hemmung der Proben von verschiedenen Amplifikations-Gerätesystemen haben die Vorteile von Target Capture, TMA und HPA nachgewiesen (4, 7).

Laut den 2002 Screening Guidelines für *Chlamydia trachomatis* und *Neisseria gonorrhoeae* empfehlen die CDC (Centers for Disease Control and Prevention) eine Reihe von Optionen als Anschlusstest bei einem positiven Screening-Test, „wenn ein niedriger positiver prädiktiver Wert erwartet werden kann oder ein falsch positives Ergebnis ernsthafte psychosoziale oder juristische Folgen haben würde“ (1). Eine dieser Optionen für zusätzliche Tests kann ein anderer FDA-geprüfter Nukleinsäure-Amplifikationstest sein, der ein anderes Target verwendet als der erste Test. Der APTIMA GC Assay und der APTIMA COMBO 2 Assay zielen beide auf die 16S rRNA-Untereinheit für Capture und Nachweis ab. Die Capture-Sonde ist bei beiden Tests gleich, aber der APTIMA GC Assay erkennt zum Nachweis eine andere Region der 16S rRNA-Untereinheit als der APTIMA COMBO 2-Test.

Testprinzip

Der APTIMA GC Assay kombiniert die Technologien des Target-Capture, TMA und HPA.

Die Proben werden in ihren jeweiligen Probentransportgefäßen gesammelt. Die Transportlösung in diesen Gefäßen setzt das rRNA-Target frei und schützt es vor Abbau während der Lagerung. Bei der Durchführung des APTIMA GC Assays im Labor wird das Target-rRNA-Molekül durch Verwendung eines Fänger-Oligomers mittels Target Capture mit magnetischen Mikropartikeln von den Proben isoliert. Das Fänger-Oligomer enthält eine Sequenz, die zu einem spezifischen Bereich des Targetmoleküls komplementär ist, sowie Deoxyadenosinreste. Während des Hybridisierungsschritts bindet sich die sequenzspezifische Region des Fänger-Oligomers an eine spezifische Region des Targetmoleküls. Das Capture des Fänger-Oligomer-Target-Komplexes aus der Lösung erfolgt dann durch Verminderung der Reaktionstemperatur auf Raumtemperatur. Diese Temperatursenkung ermöglicht das Auftreten einer Hybridisierung zwischen dem Desoxyadenosinbereich auf dem Fänger-Oligomer und den Polydesoxythymidin-Moleküle, die kovalent an die Magnetpartikel gebunden sind. Diese Mikropartikel, einschließlich der an sie gebundenen Targetmoleküle, werden mithilfe von Magneten zur Seite des Reaktionsröhrchens gezogen und der Überstand wird aspiriert. Die Partikel werden gewaschen, um Restprobenmatrix zu entfernen, die Amplifikationsreaktionshemmer enthalten können. Nach Abschluss der Target-Capture-Schritte sind die Proben zur Amplifikation bereit.

Target-Amplifikationstests basieren auf der Fähigkeit von komplementären Oligonukleotid-Primern zur Bindung an spezifischen Stellen (Annealing) und zur Ermöglichung einer enzymatischen Amplifikation der Target-Nukleinsäurestränge. Die Gen-Probe TMA-Reaktion repliziert eine spezifische Region des 16S rRNA von GC über DNA-Intermediate. Für das Targetmolekül wird eine spezifische Reihe von Primern verwendet. Die Detektion der rRNA-Amplifikationsproduktsequenzen (Amplikon) wird durch Nukleinsäurehybridisierung erbracht. Eine einsträngige chemilumineszierende DNA-Sonde, die komplementär zu einer Region des Target-Amplikons ist, wird mit einem Acridiniumestermolekül markiert. Die markierte DNA-Sonde vereinigt sich mit Amplikon und bildet stabile RNA:DNA-Hybride. Das Selection-

Reagenz differenziert die hybridisierte von der nicht hybridisierten Sonde und eliminiert somit die Erzeugung eines Messsignals von einer nicht hybridisierten Sonde. Während des Detektionsschritts wird Licht, das von den markierten RNA:DNA-Hybriden emittiert wird, als Photonensignale in einem Luminometer gemessen und als relative Lichteinheiten (Relative Light Units, RLU) berichtet.

Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

A. Zur Verwendung in der *In-vitro*-Diagnostik.

B. Zusätzliche spezifische Warnhinweise, Vorsichtsmaßnahmen und Verfahren zur Einschränkung von Kontamination für das TIGRIS DTS System finden Sie in der *Bedienungsanleitung des TIGRIS DTS Systems (TIGRIS DTS System Operator's Manual).*

C. Zusätzliche spezifische Warnhinweise, Vorsichtsmaßnahmen und Verfahren zur Einschränkung von Kontamination für das PANTHER System finden Sie in der *Bedienungsanleitung des PANTHER Systems (PANTHER System Operator's Manual).*

Laborbezogen

D. Nur die im Lieferumfang enthaltenen oder angegebenen Einweg-Laborprodukte verwenden.

E. Die normalen Vorsichtsmaßnahmen im Labor ergreifen. In den ausgewiesenen Arbeitsbereichen nicht essen, trinken oder rauchen. Ungepuderte Einweghandschuhe, Augenschutz und Laborkittel beim Umgang mit Proben und Kitreagenzien tragen. Nach der Handhabung von Proben und Kitreagenzien die Hände gründlich waschen.

F. **Warnung: Reiz- und Ätzstoffe.** Kontakt von Auto Detect 1 und Auto Detect 2 mit der Haut, den Augen und Schleimhäuten vermeiden. Bei Kontakt dieser Flüssigkeiten mit der Haut oder den Augen den betroffenen Bereich mit Wasser abwaschen. Bei Verschütten dieser Flüssigkeiten die Verschüttung mit Wasser verdünnen und dann aufwischen.

G. Arbeitsflächen, Pipetten und andere Geräte müssen regelmäßig mit einer 2,5% bis 3,5% (0,35 M bis 0,5 M) Natriumhypochloritlösung dekontaminiert werden.

Spezifisch für DTS-Systeme

H. Ein getrennter Bereich für HPA wird dringend empfohlen, um die Amplikonkontamination im Test auf ein Mindestmaß zu beschränken. Dieser speziell reservierte Bereich sollte von den Reagenzvorbereitungs-, Target-Capture- und Amplifikationsbereichen entfernt sein.

I. Um Kontamination der Laborbereiche mit Amplikon zu vermeiden, sollte im Laborbereich ein Arbeitsfluss in einer Richtung implementiert werden: angefangen bei der Reagenzvorbereitung bis hin zu HPA. Proben, Geräte und Reagenzien sollten nicht in einen Bereich zurückgebracht werden, wo ein vorheriger Schritt ausgeführt wurde. Auch sollte das Personal nicht in vorherige Arbeitsbereiche gehen, ohne die vorschriftsmäßigen Sicherheitsvorkehrungen gegen Kontamination zu treffen.

Probenbezogen

J. Für die Entnahme von endozervikalen und männlichen urethralen Abstrichproben darf nur das APTIMA-Unisex-Tupfer-Probenentnahmekit für endozervikale und männliche urethrale Abstriche verwendet werden. Für die Sammlung von Urinproben darf nur das APTIMA-Urinprobenentnahmekit für männliche und weibliche Urinproben verwendet werden. Für vom Arzt entnommene bzw. von der Patientin (selbst) durchgeführte Vaginalabstriche darf nur das APTIMA Probenentnahmekit für Vaginalabstriche verwendet werden.

K. Die Verfallsdaten auf den Probenentnahmekits beziehen sich auf die Entnahmestelle und nicht die Testeinrichtung. Zu irgendeinem Zeitpunkt vor dem Verfallsdatum des Probenentnahmekits gesammelte Proben, die gemäß der Packungsbeilage transportiert und gelagert wurden, sind gültig für Tests, selbst wenn das Verfallsdatum auf dem Entnahmegefäß überschritten wurde.

L. Die PreservCyt-Lösung wurde als alternatives Medium zum Test mit dem APTIMA GC Assay validiert. Papanicolaou-Abstriche in PreservCyt-Lösung (PreservCyt Solution liquid Pap), die mit dem ThinPrep 3000-Prozessor oder anderen Geräten bearbeitet wurden, wurden nicht zum Test auf *Neisseria gonorrhoeae* mit dem APTIMA GC Assay beurteilt.

M. Nach der Zugabe von Urin muss der Füllstand im Urintransportgefäß zunächst zwischen den beiden schwarzen Markierungslinien auf dem Reaktionsgefäßetikett liegen. Sonst muss die Probe verworfen werden.

N. Um die Probenintegrität zu wahren, müssen während des Probenversands die ordnungsgemäßen Lagerbedingungen aufrecht erhalten werden. Die Probenstabilität unter anderen Versandbedingungen als den hier empfohlenen wurde nicht beurteilt.

O. Proben können infektiös sein. Bei der Durchführung dieses Tests sind die allgemein gültigen Vorsichtsmaßnahmen zu befolgen. Der Laborleiter muss die richtigen Handhabungs- und Entsorgungverfahren festlegen. Es darf nur Personal, das in der Handhabung von infektiösen Materialien geschult wurde, gestattet werden, dieses Diagnoseverfahren auszuführen.

P. Kreuzkontamination in den Probenbehandlungsschritten vermeiden. Die Proben können sehr hohe Konzentrationen von Organismen aufweisen. Es ist sicherzustellen, dass die Probenbehälter nicht miteinander in Berührung kommen. Benutzte Materialien dürfen nicht über offene Behälter hinweg entsorgt werden. Wechseln Sie die Handschuhe, wenn sie mit Proben in Kontakt kommen.

Q. Wenn das Labor ein Abstrichproben-Transportgefäß ohne Tupfer, mit zwei Tupfern, einem Reinigungstupfer oder einem nicht von Gen-Probe gelieferten Tupfer erhält, muss die Probe abgelehnt werden. Vor der Ablehnung eines Tupfertransportgefäßes ohne Tupfer sicherstellen, dass es kein APTIMA-Probentransfergefäß ist, da dieses Probentransfergefäß keinen Tupfer enthält.

R. Für Papanicolaou-Abstriche in PreservCyt-Lösung (PreservCyt liquid Pap) ist die Probenentnahme entsprechend der Herstelleranleitung vorzunehmen. Aliquote, die anschließend aus dem PreservCyt-Fläschchen zum Test mit dem APTIMA GC Assay entnommen werden, dürfen nur mit dem APTIMA-Probentransferkit durchgeführt werden.

S. Nach der Punktion kann unter bestimmten Bedingungen aus den Verschlüssen der APTIMA-Transportgefäße Flüssigkeit auslaufen. Um dies zu verhindern, sind die Anweisungen im jeweiligen Abschnitt *Testverfahren* zu befolgen.

Testbezogen

T. Die Leistung von vaginalen Abstrichproben bei Schwangeren wurde nicht beurteilt.

U. Die Leistung von endozervikalen, vaginalen und männlichen urethralen Abstrichproben, männlichen und weiblichen Urinproben und Papanicolaou-Abstrichen in PreservCyt-Lösung (PreservCyt Solution liquid Pap) wurde bei Jugendlichen unter 16 Jahren nicht beurteilt.

V. Ein Testkit nicht nach dem Verfallsdatum verwenden.

W. Reagenzien aus Kits mit verschiedenen Chargennummern nicht austauschen, vermischen oder kombinieren. APTIMA Kontrollen und Assay Fluids dürfen aus verschiedenen Chargen stammen.

Spezifisch für DTS-Systeme

X. Es müssen Spitzen mit hydrophoben Stöpseln verwendet werden. Mindestens zwei Wiederholungspipetten müssen zur ausschließlichen Verwendung mit diesem Assay reserviert werden: einer zur Verwendung in den Schritten Target Capture und Amplifikation und einer zur Verwendung in den HPA-Schritten. Zwei Mikropipetten müssen zur ausschließlichen Verwendung in diesem Test reserviert werden: eine für den Probentransfer und eine für die Reagenzienvorbereitung. Alle Pipetten müssen regelmäßig gereinigt werden, wie in *Testverfahren mit DTS-Systemen*, *Verfahrenshinweise* beschrieben.

Y. Bei Verwendung von Wiederholungspipettierern zur Zugabe von Reagenzien darf das Reaktionsgefäß nicht mit der Pipettenspitze berührt werden, um Kontamination von einem Reaktionsgefäß zum anderen zu vermeiden.

Z. Ausreichendes Mischen ist erforderlich, um korrekte Testergebnisse zu erhalten. Vollständige Einzelheiten siehe *Testverfahren mit DTS-Systemen*, *Verfahrenshinweise*.

AA. Separate Wasserbäder sind für die ausschließliche Verwendung in den Assayschritten Target-Capture, Amplifikation und HPA bereitzustellen.

AB. Die Testreproduzierbarkeit wurde mit einem mit rRNA gespikten Tupfertransportmedium ermittelt. Die Reproduzierbarkeit von Tests von Abstrich- und Urinproben mit Zielorganismen wurde nicht ermittelt.

AC. Abdeckfolien sollten sofort nach ihrer Entfernung von den Reaktionsgefäßen im Abfallbehälter entsorgt werden. Es sind stets neue Abdeckfolien zu verwenden. Sie dürfen niemals aus einem vorherigen Schritt noch einmal verwendet werden. Abdeckfolien sind fest oben auf allen Reaktionsgefäßen anzubringen.

Lagerungs- und Handhabungsbedingungen für Reagenzien

A. Die folgenden Reagenzien sind stabil bei Lagerung im Bereich von 2 °C bis 8 °C (gekühlt):

   APTIMA-Amplifikationsreagenz GC

   APTIMA-Enzymreagenz

   APTIMA-Sondenreagenz GC

   APTIMA-Target-Capture-Reagenz B

   APTIMA Positive Kontrolle, GC / Negative Kontrolle, CT

   APTIMA Positive Kontrolle, CT / Negative Kontrolle, GC

B. Die folgenden Reagenzien sind stabil bei Lagerung im Bereich von 2 °C bis 30 °C:

   APTIMA-Lösung zur Rekonstitution des Amplifikationsreagenzes GC

   APTIMA-Enzymrekonstitutionslösung

   APTIMA-Sondenrekonstitutionslösung GC

   APTIMA Selektionsreagenz

C. Die folgenden Reagenzien sind stabil bei Lagerung im Bereich von 15 °C bis 30 °C (Raumtemperatur):

   APTIMA-Target-Capture-Reagenz GC

   APTIMA-Waschlösung

   APTIMA-Puffer für Deaktivierungs-flüssigkeit

   APTIMA-Ölreagenz

D. Target-Capture-Arbeitsreagenz GC (wTCR GC) ist bei Lagerung im Bereich von 15 °C bis 30 °C 60 Tage lang stabil. Nicht gekühlt lagern.

E. Nach der Rekonstitution sind das Enzymreagenz, Amplifikationsreagenz GC und das Sondenreagenz GC stabil für 60 Tage bei Lagerung im Temperaturbereich von 2 °C bis 8 °C.

F. Entsorgen Sie alle unbenutzten rekonstituierten Reagenzien einschließlich wTCR nach 60 Tagen oder nach Ablauf des Verfallsdatums der Hauptcharge (das frühere Datum ist ausschlaggebend).

G. Kontrollen sind bis zum auf dem jeweiligen Fläschchen angegebenen Datum stabil.

H. Reagenzien aus im TIGRIS DTS System aufbewahrten 50-Test-Flaschen sind 48 Stunden im System stabil.

I. Im TIGRIS DTS System aufbewahrte Reagenzien aus den Flaschen für 100 Tests haben eine Haltbarkeit von 96 Stunden im System.

J. Im PANTHER System aufbewahrte Reagenzien haben eine Haltbarkeit von 72 Stunden im System.

K. Das Sondenreagenz GC und das rekonstituierte Sondenreagenz GC sind lichtempfindlich. Die Reagenzien sind vor Licht geschützt zu lagern.

L. Die Lichtexposition des rekonstituierten Sondenreagenzes sollte entsprechend eingeschränkt werden. Nach Erwärmung auf Raumtemperatur können manche Kontrollgefäße eine Trübung aufweisen oder Präzipitate enthalten. Trübung oder Präzipitate in Verbindung mit Kontrollen haben keine Auswirkung auf die Leistung der Kontrollen. Wenn klare Kontrollen gewünscht werden, kann die Solubilisierung beschleunigt werden, indem sie im oberen Raumtemperaturbereich (15 °C bis 30 °C) inkubiert werden.

M. Die Reagenzien nicht einfrieren.

Probenentnahme und -lagerung

Der APTIMA GC Assay ist zum Nachweis der Präsenz von GC in vom Arzt entnommenenendozervikalen, vaginalen und männlichen urethralen Abstrichproben, von der Patientin (selbst) durchgeführten vaginalen Abstrichen, weiblichen und männlichen Urinproben und Papanicolaou-Abstrichen in PreservCyt-Lösung (PreservCyt liquid Pap) bestimmt. Die Leistung von anderen als mit den folgenden Probenentnahmekits entnommenen Proben wurde nicht beurteilt:

- APTIMA-Unisex-Tupfer-Probenentnahmekit für endozervikale und männliche urethrale Abstrichproben
- APTIMA Urinprobenentnahmekit für Urinproben von Männern und Frauen
- APTIMA Probenentnahmekit für Vaginalabstriche
- APTIMA-Probentransferkit zur Verwendung mit in PreservCyt-Lösung entnommenen gynäkologischen Proben

A. Anweisungen zur Probenentnahme:

Die Anleitung zur Probengewinnung ist in der Packungsbeilage des entsprechenden Probenentnahmekits enthalten.

B. Probentransport und -lagerung vor dem Test:

1. Abstrichproben:
   a. Nach der Sammlung ist die Abstrichprobe bis zum Test im Abstrichproben-Transportröhrchen bei 2 °C bis 30 °C zu transportieren und aufzubewahren. Die Proben müssen innerhalb von 60 Tagen nach der Entnahme mit dem APTIMA GC Assay getestet werden. Wenn eine längere Lagerung erforderlich ist, bei -20 °C bis -70 °C bis zu 12 Monate nach der Entnahme gefrieren (siehe *Probenstabilitätsstudien*).
2. Urinproben:
   a. Urinproben, die noch im primären Entnahmebehälter sind, müssen bei 2 °C bis 30 °C ins Labor transportiert werden. Transferieren Sie die Urinprobe innerhalb von 24 Stunden nach der Entnahme in das APTIMA-Urinproben-Transportgefäß. Lagern Sie sie bei 2 °C bis 30 °C und testen Sie sie innerhalb von 30 Tagen nach der Gewinnung.
   b. Nach der Gewinnung sind die behandelten Urinproben im APTIMA-Urinproben-Transportröhrchen bei 2 °C bis 30 °C zu transportieren und bis zum Test bei 2 °C bis 30 °C zu lagern. Die durchgeführten Urinproben sollten innerhalb von 30 Tagen nach der Sammlung mit dem APTIMA GC Assay getestet werden. Wenn eine längere Lagerung erforderlich ist, bei -20 °C bis -70 °C bis zu 12 Monate nach der Entnahme gefrieren (siehe *Probenstabilitätsstudien*).

3. Papanicolaou-Abstriche in PreservCyt-Lösung (PreservCyt Solution liquid Pap):
   a. Papanicolaou-Abstriche in PreservCyt-Lösung (PreservCyt Solution liquid Pap), die für GC-Assays bestimmt sind, müssen innerhalb von 30 Tagen nach der Entnahme für die Zytologie bearbeitet und/oder in ein APTIMA-Probentransferröhrchen transferiert werden, wenn sie bei 2 °C bis 30 °C gelagert werden (siehe *Probenstabilitätsstudien*).
   b. Bei Verwendung des ThinPrep Aliquot-Entfernungsverfahrens finden Sie eine Anleitung zur Aliquotentfernung im *Anhang der Bedienungsanleitung für den ThinPrep 2000- oder ThinPrep 3000-Prozessor (ThinPrep 2000 oder ThinPrep 3000 Processor Operator's Manual—Addendum)*. Transferieren Sie 1 mL des entfernten Aliquots gemäß der Anleitung in der Packungsbeilage des APTIMA-Probentransferkits in ein APTIMA-Probentransferröhrchen.
   c. Beim Test der Probe nach der Bearbeitung mit dem ThinPrep 2000-Prozessor bearbeiten Sie den Papanicolaou-Abstrich in PreservCyt-Lösung (PreservCyt Solution liquid Pap) gemäß der *Bedienungsanleitung für den ThinPrep 2000-Prozessor (ThinPrep 2000 Processor Operator's Manual)* und der Packungsbeilage des APTIMA-Probentransferkits. Transferieren Sie 1 mL der restlichen Flüssigkeit im Fläschchen mit der PreservCyt-Lösung gemäß der Anleitung in der Packungsbeilage des APTIMA-Probentransferkits in ein APTIMA-Probentransferröhrchen.
   d. Nach dem Transfer des Papanicolaou-Abstrichs in PreservCyt-Lösung (PreservCyt Solution liquid Pap) in das APTIMA-Probentransferröhrchen muss diese Probe innerhalb von 30 Tagen mit dem APTIMA GC Assay getestet werden, wenn sie bei 2 °C bis 8 °C gelagert wird, oder innerhalb von 14 Tagen, wenn sie bei 15 °C bis 30 °C gelagert wird. Wenn längere Lagerungszeiten erforderlich sind, frieren Sie die Probe bei -20 °C bis -70 °C bis zu 12 Monate nach dem Transfer ein (siehe *Probenstabilitätsstudien*).

C. Probenlagerung nach dem Test:
   1. Die bereits getesteten Proben müssen aufrecht in einem Ständer gelagert werden.
   2. Die Probentransportgefäße sind mit einem neuen Barriereschutz aus sauberem Plastik oder Folie zu bedecken.
   3. Wenn getestete Proben gefroren oder versandt werden müssen, entfernen Sie die durchstechbaren Kappen und setzen Sie neue undurchstechbare Kappen auf die Probentransportröhrchen. Wenn Proben zum Test an eine andere Einrichtung versandt werden müssen, müssen die empfohlenen Temperaturen eingehalten werden. Vor der Entfernung des Deckels von bereits getesteten und wieder verschlossenen Proben müssen die Probentransportröhrchen 5 Minuten bei 420 RCF (Relative Zentrifugalkraft) zentrifugiert werden, um die gesamte Flüssigkeit zum Boden des Gefäßes zu bringen. **Verspritzen und Kreuzkontamination vermeiden**.

Hinweis: *Der Versand der Proben muss in Übereinstimmung mit geltenden nationalen und internationalen Frachtbestimmungen erfolgen.*

DTS-Systeme

Die Reagenzien für den APTIMA GC Assay auf den DTS Systems sind unten aufgeführt. Die Symbole zur Identifikation der Reagenzien sind neben dem Reagenznamen angegeben.

Im Lieferumfang enthaltene Reagenzien und Materialien

APTIMA Neisseria gonorrhoeae Assay Kit, 100 Tests (2 Schachteln) (Kat.-Nr. 301091)

APTIMA Neisseria gonorrhoeae Assay, gekühlte Schachtel (Schachtel 1 von 2)
(nach Empfang bei 2 °C bis 8 °C lagern)

Symbol	Bestandteil	Menge
A	**APTIMA-Amplifikationsreagenz GC** *Nukleinsäuren, getrocknet in gepufferter Lösung mit < 5% Füllstoff.*	1 Fläschchen
E	**APTIMA-Enzymreagenz** *Reverse Transkriptase und RNA-Polymerase, getrocknet in HEPES-gepufferter Lösung mit < 10% Füllreagenz.*	1 Fläschchen
P	**APTIMA-Sondenreagenz GC** *Nicht infektiöse chemilumineszierende DNA-Sonden, getrocknet in sukzinatgepufferter Lösung mit < 5% Detergens.*	1 Fläschchen
TCR-B	**APTIMA-Target-Capture-Reagenz B** *Nicht infektiöse Nukleinsäure in gepufferter Lösung mit < 5% Detergens.*	1 x 0,35 mL
PGC/ NCT	**APTIMA Positive Kontrolle, GC / Negative Kontrolle, CT** *Nicht infektiöse GC-Nukleinsäure in gepufferter Lösung mit < 5% Detergens. Jede 400-µL-Probe enthält das geschätzte rRNA-Äquivalent von 50 GC-Zellen (250 fg/Assay*).*	3 x 1,7 mL
PCT/ NGC	**APTIMA Positive Kontrolle, CT / Negative Kontrolle, GC** *Nicht infektiöse CT- Nukleinsäure in gepufferter Lösung mit < 5% Detergens. Jede 400-µL-Probe enthält das geschätzte rRNA-Äquivalent von 1 CT IFU (5 fg/Assay*).*	3 x 1,7 mL

*Die rRNA-Äquivalente wurden auf der Grundlage der Genomgröße und des geschätzten DNA:RNA-Verhältnisses/Zelle jedes Organismus berechnet.

Das gekühlte Kit enthält auch die folgenden Artikel (in einer Aufbewahrungsschale):
(nach Empfang bei 2 °C bis 30 °C lagern)

Symbol	Bestandteil	Menge
AR	**APTIMA-Lösung zur Rekonstitution des Amplifikationsreagenzes GC** *Wässrige Lösung mit Konservierungsmitteln.*	1 x 9.3 mL
ER	**APTIMA-Enzymrekonstitutionslösung** *HEPES-gepufferte Lösung mit oberflächenaktiver Substanz und Glyzerol.*	1 x 3.3 mL
PR	**APTIMA-Sondenrekonstitutionslösung GC** *Sukzinatgepufferte Lösung mit < 5% Detergens.*	1 x 12.4 mL

Das gekühlte Kit enthält auch die folgenden Artikel (in einer Aufbewahrungsschale): (nach Empfang bei 2 °C bis 30 °C lagern)

Symbol	Bestandteil	Menge
S	**APTIMA-Selection-Reagenz** *600 mM Boratpufferlösung mit oberflächenaktiver Substanz.*	1 x 31 mL
	Rekonstitutions-verbindungsstücke	3
	Abdeckfolie	1 Packung

APTIMA Neisseria gonorrhoeae Assay, Raumtemperatur-Schachtel (Schachtel 2 von 2) (nach Empfang bei 15 °C bis 30 °C lagern)

Symbol	Bestandteil	Menge
TCR	**APTIMA-Target-Capture-Reagenz GC** *Gepufferte Salzlösung mit Festphase und Fänger-Oligomeren.*	1 x 22 mL
W	**APTIMA-Waschlösung** *10 mM HEPES-gepufferte Lösung mit < 2%-Detergens.*	1 x 402 mL
DF	**APTIMA-Puffer für Deaktivierungs-flüssigkeit** *800 mM Bicarbonat-gepufferte Lösung.*	1 x 402 mL
O	**APTIMA-Ölreagenz** *Silikonöl.*	1 x 24,6 mL

Erforderliche, jedoch nicht im Lieferumfang enthaltene Materialien

Hinweis: *Materialien, die von Gen-Probe erhältlich sind, sind mit der Katalognummer aufgeführt, sofern nicht anders angegeben.*

	Kat.-Nr.
LEADER HC+ Luminometer	104747-01
GEN-PROBE Target Capture System (TCS)	104555
Inkubatoren und Vortexer:	
2 Vortex-Mischer für mehrere Röhrchen	*102160*
3 Zirkulierende Wasserbäder (62 °C ± 1 °C, 42 °C ± 1 °C, 62 °C ± 1 °C)	*104586*
3 Wasserbad-Distanzstücke	*104627*
oder	
2 SB100 Dry Heat Bath/Vortexer	*105524*
Bei steigendem Testvolumen werden eventuell weitere SB100-Bäder benötigt	
APTIMA Auto Detect Kit (Auto-Detect-Kit)	301048
2 eppendorf Repeater Plus Pipettors	105725
2 Pipetten, 1000 µL, RAININ PR1000	901715
eppendorf Pipette, 20 µL bis 200 µL	105726
Spitzen für Wiederholungspipetten, 2,5 mL	21-381-329
Spitzen für Wiederholungspipetten, 5,0 mL	21-381-330
Spitzen für Wiederholungspipetten, 25,0 mL	21-381-115

	Kat.-Nr.
Spitzen, P1000-Ausführung *Spitze mit Sonderdurchmesser, nur von Gen-Probe erhältlich*	105049
Pipettenspitzen, 20 µL bis 200 µL	705512 (Fisher)
Zehn-Röhrchen-Einheiten (TTU)	TU0022
Zehn-Spitzen-Kassetten (TTC)	104578
APTIMA-Unisex-Tupfer-Probenentnahmekit für endozervikale und männliche urethrale Abstriche verwendet werden	301041
APTIMA Urinprobenentnahmekit für Urinproben von Männern und Frauen	301040
APTIMA Urinproben-Transportgefäße für männliche und weibliche Urinproben	105575
APTIMA Entnahmekit für Vaginalabstrichproben	301162
APTIMA-Probentransferkit	301154C
SysCheck Kalibrationsstandard	301078
Chlorbleiche, 5% bis 7% (0,7 M bis 1,0 M) Natriumhypochloritlösung	—
Standard-Urinsammelbehälter, ohne Konservierungsmittel	—
Plastikbehälter mit großem Deckel	—
APTIMA durchlässige Kappen	105668
Ersatzkappen, undurchlässig	103036A

Optionale Materialien

	Kat.-Nr.
APTIMA Kontrollenkit	301110
APTIMA Assay Fluids *APTIMA Waschlösung, APTIMA Puffer für Deaktivierungslösung und APTIMA Ölreagenz*	302002C
GEN-PROBE Bleichmittelverstärker *für die routinemäßige Reinigung von Oberflächen und Geräten*	302101
STD Proficiency-Panel	102325
Spitzen, 1000 µl, leitfähig, zur Flüssigkeitsstandmessung	10612513 (Tecan)
TECAN Freedom EVO 100/4 mit *DTS 800 Systems APTIMA COMBO 2 Deckplatte 105200* *Reagenzien-Vorratsbehälter (Viertelmodul, 40 mL) 104765* *Geteilter Reagenzien-Vorratsbehälter (Viertelmodul, 19 mL x 2) 104763*	900932

Testverfahren mit DTS-Systemen

A. Gerätevorbereitung

1. Ein Wasserbad auf 62 °C ± 1 °C (für Target Capture und Primer-Reassoziation), ein zweites Wasserbad auf 42 °C ± 1 °C (für Amplifikation) und ein drittes Wasserbad auf 62 °C ± 1 °C (für HPA) temperieren. Bei Verwendung des SB100 Dry Heat Bath/Vortexers siehe das *Anwendungsblatt für den SB100 Dry Heat Bath/Vortexer* (*SB100 Application Sheet*).
2. Arbeitsflächen und Pipetten müssen vor Testbeginn mit einer 2,5% bis 3,5% (0,35 M bis 0,5 M) Natriumhypochloritlösung dekontaminiert werden. Lassen Sie die Natriumhypochloritlösung mindestens eine 1 Minute auf den Flächen und Pipetten einwirken. Spülen Sie sie anschließend mit Wasser ab. Lassen Sie die Natriumhypochloritlösung nicht trocknen. Decken Sie die Arbeitsfläche, auf der der Test durchgeführt wird, mit sauberen, absorbierenden Labortischunterlagen mit Kunststoffunter-schicht ab.
3. Setzen Sie eine ausreichende Zahl von Zehn-Spitzen-Kassetten in das Target Capture System (TCS). Stellen Sie sicher, dass die TCS-Waschflasche mit der APTIMA-Waschlösung gefüllt ist und die Absaugvorrichtung an der Vakuumpumpe angeschlossen ist. (Siehe die *Bedienungsanleitung des Target Capture Systems [Target Capture System Operator's Manual].)*

B. Reagenzrekonstitution

Hinweis: *Die Reagenzrekonstitution sollte vor Beginn des Probentransfers durchgeführt werden.*

1. Zur Rekonstitution von Amplifikations-GC-, Enzym- und Sonden-GC-Reagenz mischen Sie die jeweilige Flasche mit lyophilisiertem Reagenz mit der Rekonstitutionslösung. Lassen Sie ggf. gekühlte Rekonstitutionslösungen vor Gebrauch auf Raumtemperatur kommen.
   a. Paaren Sie die entsprechende Rekonstitutionslösung mit dem lyophilisierten Reagenz. Die Etiketten sind farbcodiert, um die korrekte Paarung zu erleichtern.
   b. Öffnen Sie das Fläschchen mit dem gefriergetrockneten Reagenz und stecken Sie das gekerbte Ende des Rekonstitutionsverbindungsstücks fest in die Fläschchenöffnung (Abb. 1, Schritt 1).
   c. Öffnen Sie die Flasche mit der entsprechenden Rekonstitutionslösung und legen Sie den Deckel auf eine saubere, abgedeckte Arbeitsfläche.
   d. Halten Sie die Flasche mit der Rekonstitutionslösung auf dem Labortisch fest und stecken Sie das andere Ende des Rekonstitutionsverbindungsstücks fest in die Flaschenöffnung (Abb. 1, Schritt 2).
   e. Drehen Sie die die zusammengebaute Einheit aus Flasche und Fläschchen langsam um. Lassen Sie die Lösung aus der Flasche in das Fläschchen ablaufen (Abb. 1, Schritt 3).
   f. Mischen Sie die Lösung im Fläschchen durch behutsames Schwenken. Beim Schwenken des Fläschchens Schaumbildung vermeiden (Abb. 1, Schritt 4).
   g. Warten Sie, bis sich das gefriergetrocknete Reagenz aufgelöst hat, und drehen Sie dann die zusammengebaute Einheit aus Flasche und Fläschchen erneut um. Ein Neigungswinkel von 45° ermöglicht, die Schaumbildung auf ein Mindestmaß zu beschränken (Abb. 1, Schritt 5). Lassen Sie die gesamte Flüssigkeit in die Flasche zurücklaufen.
   h. Entfernen Sie das Rekonstitutionsverbindungsstück von der Flasche (Abb. 1, Schritt 6).

i. Verschließen Sie die Flasche wieder. Tragen Sie die Initialen des Bedieners und das Rekonstitutionsdatum auf dem Etikett ein (Abb. 1, Schritt 7).

j. Werfen Sie das Rekonstitutionsverbindungsstück und das Fläschchen weg (Abb. 1, Schritt 8).

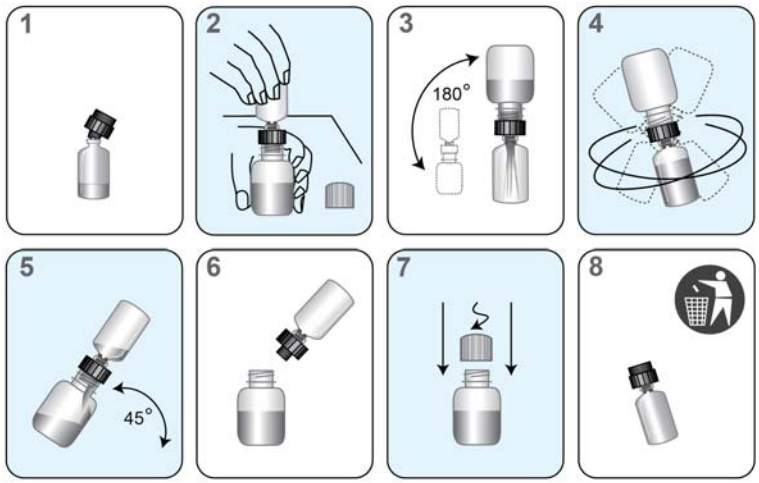

Abb. 1. Rekonstitutionsverfahren mit DTS-Systemen

2. Zuvor rekonstituiertes Sonden-GC-, Amplifikations-GC- und Enzymreagenz muss vor dem Start des Assays auf Raumtemperatur (15 °C bis 30 °C) gebracht werden. Wenn das Sondenreagenz ein Präzipitat enthält, das bei Raumtemperatur nicht wieder in Lösung geht, erwärmen Sie es 1 bis 2 Minuten auf 62 °C. Nach diesem Erwärmungsschritt kann das Sondenreagenz verwendet werden, selbst wenn noch ein Restpräzipitat vorhanden ist. Nach der Resuspension durch vorsichtiges Umdrehen vermischen; Schaumbildung vermeiden.

Hinweis: *Dieser Umdrehschritt muss jedes Mal erfolgen, wenn das Präzipitat in Lösung gebracht wird, ob durch Erhitzen auf 62 °C oder Erwärmen auf Raumtemperatur.*

3. Vorbereitung von Target-Capture-Arbeitsreagenz GC (wTCR GC)
   a. Transferieren Sie 20 mL des TCR GC in einen speziell reservierten, sauberen, trockenen Behälter von entsprechender Größe.
   b. Geben Sie mit einer Mikropipette 200 µL TCR-B in das TCR GC.
   c. Mischen Sie die Lösung gründlich durch Schwenken.
   d. Etikettieren Sie den Behälter. Tragen Sie die Initialen des Bedieners, das Herstellungsdatum und beide Chargennummern ein.

Hinweis: *Für eine kleinere Anzahl an Reaktionen (Proben und Kontrollen) verwenden Sie die folgenden Angaben zur Berechnung der TCR-GC und TCR-B-Volumina:*

Volumen von TCR (mL) = (Anzahl der Reaktionen + 5 extra Reaktionen) x 0,1 mL

Volumen von TCR-B (mL) = Volumen von TCR (mL) / 100

C. Target-Capture

Der zur Target-Capture und Amplifikation verwendete Wiederholungspipettierer muss zur ausschließlichen Verwendung in diesen Schritten bereitgestellt werden. Weitere Informationen siehe unter *Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen*.

Ständeraufbau

1. Lassen Sie die Kontrollen und Proben vor der Verarbeitung auf Raumtemperatur kommen.
2. **Proben nicht mit dem Vortex-Mischer mischen**.
3. Überprüfen Sie optisch, dass jedes Probenröhrchen eines der folgenden Kriterien erfüllt:
   a. In Unisex-Tupfer-Probentransportröhrchen befindet sich jeweils ein einzelner blauer APTIMA Entnahmetupfer.
   b. In Vagina-Tupfer-Probentransportröhrchen befindet sich jeweils ein einzelner rosafarbener APTIMA Entnahmetupfer.
   c. In Urin-Probentransportröhrchen liegt das End-Urinvolumen zwischen den schwarzen Füllstandsmarkierungen.
   d. In APTIMA Probentransportröhrchen für Liquid-Pap-Proben in PreservCyt-Lösung (PreservCyt Solution liquid Pap) befindet sich kein Tupfer.
4. Inspizieren Sie die Transportgefäße vor dem Einstechen:
   a. Wenn sich im Transportgefäß im Raum zwischen der Flüssigkeit und dem Deckel Luftblasen befinden, zentrifugieren Sie das Reaktionsgefäß 5 Minuten bei 420 RCF, um die Luftblasen zu entfernen.
   b. Wenn ein Transportrgefäß ein geringeres Volumen aufweist, als es in der Regel vorliegt, wenn die Sammelanleitung befolgt wurde, zentrifugieren Sie das Reaktionsgefäß 5 Minuten bei 420 RCF, um sicherzustellen, dass sich keine Flüssigkeit im Deckel befindet.
   c. Falls der Flüssigkeitsstand in einem Urintransportröhrchen nicht zwischen den beiden schwarzen Markierungslinien liegt, muss die Probe verworfen werden. Nicht in ein überfülltes Reaktionsgefäß stechen.
   d. Wenn eine Urinprobe ein Präzipitat enthält, die Probe bis zu 5 Minuten auf 37 °C erwärmen. Wenn das Präzipitat nicht wieder in Lösung geht, stellen Sie sicher, dass das Präzipitat nicht die Probenabgabe verhindert.

Hinweis: *Bei Nichtbefolgen von Schritt 4a-4c kann aus dem Probenröhrchendeckel Flüssigkeit auslaufen.*

5. Vor dem Testen von Proben mit Standardverschlüssen (undurchlässige Kappen) müssen diese Proben 5 Minuten bei 420 RCF (Relative Zentrifugalkraft) zentrifugiert werden, um vor dem Abnehmen der Kappe die gesamte Flüssigkeit zum Boden des Röhrchens zu bringen. **Verspritzen und Kreuzkontamination vermeiden.**
6. Setzen Sie ausreichend Zehn-Gefäß-Einheiten (Ten Tube Units, TTUs) in den TTU-Ständer für die Kontrollen und Proben.
7. Wenn eine Arbeitsliste gewünscht wird, erstellen Sie diese jetzt. Die Anleitung zur Erstellung einer Arbeitsliste finden Sie in der *Software-Bedienungsanleitung für den APTIMA-Assay (APTIMA Assay Software Operator's Manual).*
8. Mischen Sie das wTCR GC gründlich. Geben Sie mit der Wiederholungspipette 100 µL in jedes Reaktionsröhrchen.

9. **Das erste Gefäß des Tests muss die negative Kontrolle und das zweite Gefäß muss die positive Kontrolle enthalten.**
   a. Das Etikett der Negativkontrolle für den APTIMA GC Assay ist rosa. Der Etikettentext identifiziert die Negativkontrolle als „CONTROL + CT PCT / CONTROL – GC NGC“. Das Etikett der Positivkontrolle für den APTIMA GC Assay ist blau-grün. Der Etikettentext identifiziert die Positivkontrolle als „CONTROL + GC PGC / CONTROL – CT NCT“.
   b. Halten Sie das Gefäß mit der Negativkontrolle (rosa Röhrchenetikett) in einer Hand oder lassen Sie es im Ständer. Durchstechen Sie den Verschluss mit einem Mikropipettierer. Dabei nicht die Spitze bis zum Boden des Reaktionsgefäßes drücken. Geben Sie 400 µL der Negativkontrolle (rosa Röhrchenetikett) in das erste Reaktionsröhrchen hinzu. Geben Sie auf die gleiche Weise und mit einer neuen Pipettenspitze 400 µL der Positivkontrolle (blau-grünes Röhrchenetikett) zum zweiten Reaktionsröhrchen hinzu.
10. Fahren Sie mit dem Ständeraufbau fort, indem Sie 400 µL jeder Probe in die restlichen Reaktionsröhrchen geben. Verwenden Sie für jede Probe und Kontrolle eine neue Pipettenspitze. Das annehmbare Volumen der zum Reaktionsröhrchen hinzugefügten Kontrolle oder Probe ist 400 µL ± 100 µL. Weitere Informationen siehe unter *Verfahrenshinweise*, *Pipettierung von Kontrolle und Probe*.

Target-Capture

Die Verwendung des GEN-PROBE Target Capture Systems ist in der *Bedienungsanleitung des Target Capture Systems (Target Capture System Operator's Manual)* beschrieben. Bei Verwendung des SB100 Dry Heat Bath/Vortexers siehe das *SB100-Anwendungsblatt*.

11. Bedecken Sie die TTUs mit Abdeckfolien und schütteln Sie den Ständer vorsichtig von Hand. **Nicht mit dem Vortex-Mischer mischen.** Den Ständer 30 ± 5 Minuten lang bei 62 °C ± 1 °C in einem Wasserbad inkubieren.
12. Entfernen Sie den Ständer aus dem Wasserbad und tupfen Sie den Boden der Reaktionsgefäße auf saugfähigem Material ab.
13. Stellen Sie sicher, dass die Abdeckfolien fest angelegt sind. Ersetzen Sie sie ggf. durch neue Abdeckfolien und versiegeln Sie die TTUs fest.
14. Mischen Sie den Ständer 60 Sekunden mit dem Vortex-Mischer für mehrere Röhrchen. Einzelheiten siehe unter *Verfahrenshinweise*, *Mischen mit dem Vortex-Mischer*. Beginnen Sie mit dem Mischen mit dem Vortex-Mischer innerhalb von 2 Minuten nach der Entnahme des Ständers aus dem Wasserbad.
15. Inkubieren Sie den Ständer mit angelegten Abdeckfolien bei Raumtemperatur 30 ± 5 Minuten lang.
16. Setzen Sie den Ständer 5 bis 10 Minuten lang auf den magnetischen Sockel des TCS.
17. Saugen Sie die Pumpleitung der Dosierstation an, indem Sie APTIMA-Waschlösung durch die Dosiervorrichtung pumpen. Pumpen Sie ausreichend Flüssigkeit durch das System, so dass keine Luftblasen in der Leitung vorliegen und alle zehn Düsen einen ständigen Flüssigkeitsstrom abgeben.
18. Schalten Sie die Vakuumpumpe ein und trennen Sie die Absaugvorrichtung am ersten Anschluss zwischen der Absaugvorrichtung und der Auffangflasche. Stellen Sie sicher, dass das Vakuummessgerät den Vorschriften für die Dichtheitsprüfung entspricht.[1] Es

1 Beziehen Sie sich auf das Vakuumspezifikationsblatt für das Target Capture System (Target Capture System Vacuum Specifications Sheet) hinten in der *Bedienungsanleitung des Target Capture Systems (Target Capture System Operator's Manual)* oder nehmen Sie mit dem Technischen Kundendienst Kontakt auf.

kann 15 Sekunden dauern, bis dieser Messwert erreicht ist. Schließen Sie die Absaugvorrichtung wieder an und stellen Sie sicher, dass das Vakuummessgerät der Spezifikation des Vakuumniveaus entspricht. Lassen Sie die Vakuumpumpe eingeschaltet, bis alle Target-Capture-Schritte abgeschlossen und die Schläuche der Absaugvorrichtung trocken sind.

19. Setzen Sie die Absaugvorrichtung fest auf dem ersten Satz Spitzen auf. Aspirieren Sie die gesamte Flüssigkeit, indem Sie die Spitzen in die erste TTU herablassen, bis sie kurz den Boden der Reaktionsgefäße berühren. Die Spitzen nicht länger mit dem Boden der Gefäße in Kontakt lassen.
20. Nach Abschluss der Aspiration werfen Sie die Spitzen in ihre Original-Zehn-Spitzen-Kassette aus. Wiederholen Sie die Aspirationsschritte für die restlichen TTUs, wobei Sie eine gesonderte Spitze für jede Probe verwenden.
21. Setzen Sie die Dosiervorrichtung über jede TTU und geben Sie unter Verwendung der Dispensierpumpe 1,0 mL APTIMA Waschlösung in jedes TTU-Röhrchen.
22. Decken Sie die Gefäße mit Abdeckfolie ab und nehmen Sie den Ständer aus dem magnetischen Sockel des TCS. Mischen Sie den Ständer einmal mit dem Vortex-Mischer für mehrere Reaktionsgefäße. Einzelheiten siehe unter *Verfahrenshinweise*, *Mischen mit dem Vortex-Mischer*.
23. Setzen Sie den Ständer 5 bis 10 Minuten auf den magnetischen Sockel des TCS.
24. Aspirieren Sie die gesamte Flüssigkeit wie in Schritt 19 und 20 beschrieben.
25. Entfernen Sie den Ständer nach der letzten Aspiration aus dem magnetischen Sockel des TCS und unterziehen Sie die Röhrchen einer Sichtprüfung um sicherzustellen, dass die gesamte Flüssigkeit aspiriert wurde und dass alle Röhrchen Magnetpartikel-Pellets enthalten. Wenn Flüssigkeit sichtbar ist, setzen Sie den Ständer noch einmal 2 Minuten auf den magnetischen Sockel des TCS und wiederholen die Aspiration für diese TTU mit den gleichen Spitzen, die zuvor für jede Probe verwendet wurden.

Hinweis: *Wenn nach Abschluss der Aspiration ein Magnetpartikel-Pellet sichtbar ist, kann das Gefäß angenommen werden. Wenn kein Pellet sichtbar ist, sollte die Probe erneut getestet werden. Wenn die gleiche Probe in diesem Schritt in einem anschließenden Lauf kein Magnetpartikel-Pellet enthält, kann dies ein Hinweis auf ein probenspezifisches Problem sein. In dieser Situation wird die erneute Entnahme der Probe empfohlen.*

D. Amplifikation

Bei Verwendung des SB100 Dry Heat Bath/Vortexers siehe das *SB100-Anwendungsblatt (SB100 Application Sheet)*.

1. Geben Sie mit der Wiederholungspipette 75 µL rekonstituiertes Amplifikationsreagenz GC in jedes Reaktionsröhrchen. Alle Reaktionsmischungen im Ständer sollten nun eine rote Färbung aufweisen.
2. Geben Sie mit der Wiederholungspipette 200 µL Ölreagenz in jedes Reaktionsröhrchen.
3. Decken Sie die Reaktionsgefäße mit Abdeckfolie ab und mischen Sie sie mit dem Vortex-Mischer für mehrere Reaktionsgefäße.
4. Inkubieren Sie den Ständer in einem Wasserbad 10 ± 5 Minuten lang bei 62 °C ± 1 °C.
5. Den Ständer in ein Wasserbad mit 42 °C ± 1 °C transferieren und 5 ± 2 Minuten lang inkubieren.
6. Entfernen Sie, während der Ständer im Wasserbad ist, vorsichtig die Abdeckfolie und geben Sie mit der Wiederholungspipette 25 µL rekonstituiertes Enzymreagenz zu jedem Reaktionsröhrchen hinzu. Alle Reaktionsmischungen sollten jetzt orangefarben sein.

7. Bedecken Sie die Gefäße sofort mit einer frischen Abdeckfolie, nehmen Sie den Ständer aus dem Wasserbad und mischen Sie die Reaktionsgefäße, indem Sie den Ständer vorsichtig von Hand schütteln.
8. Inkubieren Sie den Ständer in einem Wasserbad 60 ± 15 Minuten lang bei 42 °C ± 1 °C.

E. HPA (Hybridization Protection Assay)

Bei Verwendung des SB100 Dry Heat Bath/Vortexers siehe das *SB100-Anwendungsblatt*.

Der zur Hybridisierung und für die Selektionsschritte verwendete Wiederholungspipettierer muss zur ausschließlichen Verwendung in diesen Schritten bereitgestellt werden. Siehe *Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen*.

1. Hybridisierung
   a. Entfernen Sie den Ständer aus dem Wasserbad und überführen Sie ihn in den HPA-Bereich. Geben Sie mit der Wiederholungspipette 100 µL rekonstituiertes Sondenreagenz GC in jedes Reaktionsröhrchen. Alle Reaktionsmischungen sollten jetzt eine gelbe Farbe aufweisen.
   b. Decken Sie die Reaktionsgefäße mit Abdeckfolie ab und mischen Sie den Ständer mit dem Vortex-Mischer für mehrere Reaktionsgefäße.
   c. Inkubieren Sie den Ständer in einem Wasserbad 20 ± 5 Minuten lang bei 62 °C ± 1 °C.
   d. Entfernen Sie den Ständer aus dem Wasserbad und inkubieren Sie ihn 5 ± 1 Minute lang bei Raumtemperatur.
2. Selektion
   a. Geben Sie mit dem Wiederholungspipettierer 250 µL Selection-Reagenz in jedes Reaktionsgefäß hinzu. Alle Reaktionsmischungen sollten jetzt eine rote Farbe aufweisen.
   b. Decken Sie die Reaktionsröhrchen mit Abdeckfolie ab, mischen Sie den Ständer 10 Sekunden lang bzw. bis sich eine gleichmäßige Färbung einstellt in einem Vortex-Mischer und inkubieren Sie den Ständer 10 ± 1 Minuten lang bei 62 °C ± 1 °C in einem Wasserbad.
   c. Nehmen Sie den Ständer aus dem Wasserbad.
3. Detektion

   Der Nachweis muss bei 18 °C bis 28 °C durchgeführt werden.

   a. Inkubieren Sie den Ständer 15 ± 3 Minuten lang bei 18 °C bis 28 °C.

Hinweis: *Dieser Temperaturbereich ist kritisch für die Testleistung.*

   b. Bei Einsatz des LEADER HC+ Luminometers und der APTIMA Assay-Software beziehen Sie sich bitte auf die *Bedienungsanleitung für das LEADER HC+ Luminometer (LEADER HC+ Luminometer Operator's Manual)* und die *Bedienungsanleitung für die APTIMA Assay-Software (APTIMA Assay Software Operator's Manual).*
   c. Stellen Sie sicher, dass ausreichende Auto Detect 1- und Auto-Detect-2-Volumina zur Durchführung der Tests bereit stehen.
   d. Bereiten Sie das LEADER HC+ Luminometer vor, indem Sie eine leere TTU in Kassettenposition 1 setzen und das **Wasch** (Wash)-Protokoll durchführen.
   e. Laden Sie die TTUs in das Luminometer.
   f. Melden Sie sich am Computer an. Klicken Sie auf **New Run** (Neuer Lauf), wählen Sie **APTIMA GC Assay Protocol** (APTIMA GC Assay-Protokoll) und geben Sie die Anzahl der Röhrchen (Kontrollen und Proben) ein. Klicken Sie auf **Next** (Weiter), um den Lauf zu beginnen.

Hinweis: *Der Lauf muss innerhalb von 2 Stunden vom Ende der Inkubation im Selektionsschritt abgeschlossen werden.*

g. Bereiten Sie die Deaktivierungsflüssigkeit vor, indem Sie gleiche Volumina einer 5% bis 7% (0,7 M bis 1,0 M) Natriumhypochloritlösung und des APTIMA-Puffers für Deaktivierungsflüssigkeit in einem Plastikbehälter mit großem Verschluss vermischen. Beschriften Sie den Plastikbehälter (einschl. Verfallsdatum). Die Deaktivierungsflüssigkeit ist 4 Wochen bei Raumtemperatur stabil. Entsorgen Sie die Deaktivierungsflüssigkeit nach 4 Wochen oder nachdem 100 verarbeitete Proben deaktiviert wurden (der zuerst eintretende Zeitpunkt ist maßgebend).

h. Setzen Sie nach Entfernen der gebrauchten TTUs aus dem Luminometer diese TTUs in den Behälter mit der Deaktivierungslösung. Belassen Sie die TTUs 15 Minuten vor der Entsorgung im Behälter. Der Laborleiter muss die richtigen Handhabungs- und Entsorgungverfahren festlegen.

Verfahrenshinweise

A. Controls

Für eine ordnungsgemäße Funktion mit der APTIMA Assay-Software muss die Negativkontrolle für GC, die die Bezeichnung „CONTROL + CT PCT / CONTROL – GC NGC“ hat, in der ersten Position der ersten TTU sein. Die Positivkontrolle für GC, die die Bezeichnung „CONTROL + GC PGC / CONTROL – CT NCT“ hat, muss in der zweiten Position der ersten TTU sein. Eine Platzierung in der falschen Position führt zum Fehlschlagen des Laufs. Alle zusätzlichen Kontrollen müssen als Patientenproben eingegeben werden und vom Bediener auf Eignung überwacht werden. Die Positivkontrolle für CT dient als Negativkontrolle für den APTIMA GC Assay.

B. Pipettierung von Kontrolle und Probe

Das Volumen der Kontrolle bzw. Probe, die zum Reaktionsröhrchen hinzugegeben wird, muss 400 µL ± 100 µL betragen. Eine visuelle Kontrolle des in das Reaktionsgefäß pipettierten Volumens wird empfohlen, um den Transfer des korrekten Volumens sicherzustellen. Das vorgeschriebene Kontroll- oder Probenvolumen ist für die Erzielung korrekter Ergebnisse erforderlich. Wenn nicht das richtige Volumen pipettiert wurde, pipettieren Sie wTCR GC und die Kontrolle bzw. Probe neu in ein neues Reaktionsröhrchen.

C. Reagenzien

In der Sondenrekonstitutionslösung kann sich während der Lagerung ein Niederschlag bilden. Erwärmen Sie in diesem Fall die Sondenrekonstitutionslösung 1 bis 2 Minuten auf 62 °C. Nach diesem Schritt kann die Sondenrekonstitutionslösung verwendet werden, selbst wenn noch ein Restpräzipitat vorhanden ist. Nach der Resuspension das Fläschchen durch vorsichtiges Umdrehen vermischen; Schaumbildung vermeiden.

D. Temperatur

1. Die Schritte Target-Capture, Amplifikation, Hybridisierung und Selektion sind temperaturabhängig. Daher ist es unbedingt erforderlich, dass die Wasserbäder innerhalb der angegebenen Temperaturbereiche gehalten werden.
2. Raumtemperatur ist definiert als 15 °C bis 30 °C.
3. Die Nachweisschritte des Assays müssen bei 18 °C bis 28 °C ausgeführt werden.

E. Zeit

Die Reaktionen Target-Capture, Amplifikation, Hybridisierung und Selektion sind zeitabhängig. Halten Sie die unter *Testverfahren mit DTS-Systemen* angegebenen Zeiten ein.

F. Mischen mit dem Vortex-Mischer

Richtiges Mischen mit dem Vortex-Mischer ist für die erfolgreiche Performance des APTIMA GC Assays wichtig. Bei Erzielung einer geeigneten Vortexbewegung rotiert die Suspension bei einer Geschwindigkeit, die in der Lage ist, die Lösung in die obere Hälfte des Gefäßes anzuheben. Diese Manipulation (Mischen mit dem Vortex-Mischer) wird für angegebene Zeiträume aufrecht erhalten. Zum Mischen von Reaktionsmischungen mit dem Vortex-Mischer stellen Sie den Vortex-Mischer für mehrere Reaktionsgefäße auf die niedrigste Geschwindigkeitseinstellung ein, sichern den Ständer und schalten den Mischer ein. Steigern Sie langsam das Tempo, bis die Flüssigkeit auf die halbe Höhe des Reaktionsgefäßes angestiegen ist. Mischen Sie mit dem Vortex-Mischer 10 Sekunden, über den angegebenen Zeitraum oder bis sich eine gleichmäßige Farbe einstellt. Stellen Sie dann die Geschwindigkeit auf die niedrigste Einstellung, bevor Sie den Vortex-Mischer für mehrere Röhrchen ausschalten und den Ständer entnehmen. Die Reaktionsmischungen dürfen nicht die Abdeckfolie berühren.

G. Wasserbäder

1. Der Wasserpegel in den Wasserbädern muss im Bereich von 3,8 cm bis 5 cm (1,5 Zoll - 2,0 Zoll), gemessen vom Metall-Auflagetablett (unten am Wasserbad) bis zur Wasseroberfläche, gehalten werden. Damit wird eine ordnungsgemäße Wärmeübertragung sichergestellt.
2. Zur Vermeidung von Kreuzkontaminationen sollten die Wasserbäder jeweils ausschließlich für einen bestimmten Testschritt reserviert werden.

H. Dekontamination

1. Oberflächen und Pipettierer

   Arbeitsflächen im Labor und Pipetten müssen regelmäßig mit einer 2,5% bis 3,5% (0,35 M bis 0,5 M) Natrium-hypochloritlösung dekontaminiert werden. Lassen Sie die Natriumhypochloritlösung mindestens eine 1 Minute auf den Flächen einwirken. Spülen Sie sie anschließend mit Wasser ab. Lassen Sie die Natriumhypochloritlösung nicht trocknen. Chlorlösungen können Geräte und Metall angreifen. Spülen Sie mit Chlorbleiche behandelte Geräte gründlich mit Wasser ab, um Lochfraß zu verhindern.

2. TCS-Absaugvorrichtung
   a. Setzen Sie eine neue TTC in den TTC-Ständer. Schalten Sie die Vakuumpumpe ein. Bringen Sie die Absaugvorrichtung an den Spitzen im TTC an. Aspirieren Sie die gesamte Waschlösung, die noch in der Einspülwanne der Dosierstation der Waschlösung ist. (Schieben Sie die Dosiervorrichtung aus dem Weg.)
   b. Gießen Sie mindestens 100 mL 0,5% bis 0,7% (0,07 M bis 0,1 M) oder, falls bevorzugt, 2,5% bis 3,5% (0,35 M bis 0,5 M) Natriumhypochloritlösung in die Einspülwanne. Aspirieren Sie die gesamte Lösung durch die Absaugvorrichtung.
   c. Gießen Sie mindestens 100 mL deionisiertes Wasser in die Einspülwanne. Aspirieren Sie das gesamte Wasser durch die Absaugvorrichtung.
   d. Werfen Sie die Spitzen in ihre Original-TTC aus.
   e. Lassen Sie die Vakuumpumpe eingeschaltet, bis die Schläuche der Absaugvorrichtung trocken sind, um Rückfluss zu verhindern.
   f. Dekontaminieren Sie die Oberflächen der Absaugvorrichtung, wie in *TCS-Einheit* beschrieben.

3. TCS-Abfallbehälter

   Entfernen Sie die Abfallflasche aus dem Target Capture System, wenn die Abfallflasche 25% voll ist, bzw. jede Woche.

   a. Schalten Sie die Vakuumpumpe aus und lassen Sie den Vakuumdruck angleichen.

   b. Geben Sie die Schnellverschlussvorrichtungen zwischen der Abfallflasche und der Überlaufflasche sowie der Abfallflasche und der Absaugvorrichtung frei.

   c. Entfernen Sie die Abfallflasche vom Plexiglasbehälter für die Absaugflaschen.

   d. Entfernen Sie den Deckel und geben Sie vorsichtig 400 mL 5% bis 7% (0,7 M bis 1,0 M) Natriumhypochloritlösung in die Flasche hinzu (oder 1 L, wenn eine 10-Liter-Flasche verwendet wird).

      Hinweis: *Das kann unter einem Dunstabzug erfolgen, um die Freisetzung von Dämpfen in das Labor zu verhindern.*

   e. Verschließen Sie die Abfallflasche mit dem Deckel und vermischen Sie den Inhalt vollständig durch vorsichtiges Schwenken.

   f. Lassen Sie die Abfallflasche 15 Minuten stehen und entsorgen Sie dann den Inhalt (Abfall).

   g. Spülen Sie die Abfallflasche mit Wasser, um etwaigen Restabfall zu entfernen.

   h. Verschließen Sie die leere Abfallflasche und stellen Sie sie in den Plexiglasbehälter für die Absaugflaschen. Bringen Sie die Schnellverschlussvorrichtung an der TCS-Einheit an. Entsorgen Sie beide Handschuhe vorsichtig.

4. TCS-Einheit

   Wischen Sie die Oberflächen der TCS-Einheit, der Absaugvorrichtung und der Waschpuffer-Auswurfspitzen mit Papiertüchern ab, die mit 2,5% bis 3,5% (0,35 M bis 0,5 M) Natriumhypochloritlösung angefeuchtet wurden. Spülen Sie sie im Anschluss an den Bleichschritt mit Wasser ab und trocknen Sie die Oberflächen vollständig mit Papiertüchern ab.

5. Ständer

   Tauchen Sie die Ständer in 2,5 % bis 3,5 % (0,35 M bis 0,5 M) Natriumhypochloritlösung. Stellen Sie dabei sicher, dass sie von der Natriumhypochloritlösung bedeckt sind. Lassen Sie die Ständer 10 Minuten eingetaucht. Eine längere Exposition kann Beschädigung der Ständer zur Folge haben. Spülen Sie die Ständer gründlich mit Wasser ab und setzen Sie sie auf eine saubere, saugfähige Unterlage. Lassen Sie die Ständer gut an der Luft trocknen. Lassen Sie die Ständer aufrecht, nicht umgedreht, trocknen, um ihre Lebensdauer zu verlängern.

I. Testkontamination

1. Verunreinigungsmaterialien können eingeschleppt werden, wenn während des Testprotokolls nicht mit genügend Vorsicht vorgegangen wird.
2. Die TTUs müssen in Deaktivierungsflüssigkeit dekontaminiert werden, wie unter *Detektion* beschrieben. Die TTUs dürfen nicht wieder verwendet werden.
3. Führen Sie eine regelmäßige Dekontamination der Geräte und Arbeitsflächen nach der oben in *Verfahrenshinweise*, *Dekontamination* beschriebenen Anleitung durch.
4. Wie in jedem Reagenzsystem kann übermäßiger Puder auf manchen Handschuhen eine Kontamination geöffneter Reaktionsgefäße verursachen. Es werden ungepuderte Handschuhe empfohlen.

J. Protokoll zur Überwachung auf Laborkontamination für DTS-Systeme

Es gibt viele laborspezifische Faktoren, die zu Kontamination beitragen können, darunter Testvolumen, Arbeitsablauf, Krankheitsprävalenz und verschiedene andere Laboraktivitäten. Diese Faktoren sind zu berücksichtigen, wenn die Häufigkeit der Kontaminationsüberwachung festgelegt wird. Die Intervalle zur Kontaminationsüberwachung sollten im Hinblick auf die Praktiken und Verfahren jedes Labors festgelegt werden.

Zur Überwachung auf Laborkontamination kann das folgende Verfahren mit dem APTIMA-Unisex-Tupfer-Probenentnahmekit für endozervikale und männliche urethrale Abstrichproben durchgeführt werden:

1. Beschriften Sie die Tupfertransportgefäße mit den Zahlen, die den zu testenden Bereichen entsprechen.
2. Nehmen Sie den Abstrichtupfer (blauer Schaft mit grünem Aufdruck) aus der Verpackung, feuchten Sie den Tupfer im Tupfertransportmedium an und nehmen Sie im ausgewiesenen Bereich mit einer Kreisbewegung einen Abstrich auf.
3. Setzen Sie den Tupfer sofort in das Transportröhrchen ein.
4. Den Tupferschaft an der Einkerbung vorsichtig brechen. Dabei darauf achten, dass der Inhalt nicht verspritzt wird.
5. Verschließen Sie das Tupfertransportgefäß wieder fest.
6. Wiederholen Sie Schritt 2 bis 5 für alle Abstrichbereiche.
7. Testen Sie den Tupfer mit dem APTIMA GC Assay gemäß *Testverfahren mit DTS-Systemen*.

Wenn die Ergebnisse GC-positiv oder unbestimmt sind (siehe *Testauswertung — Qualitätskontrolle/Patientenergebnisse*), ist möglicherweise die Oberfläche kontaminiert und sollte durch Behandlung mit Natriumhypochlorit, wie in *Testverfahren mit DTS-Systemen*, *Gerätevorbereitung* empfohlen, dekontaminiert werden.

Hinweis: *Wenn eine Kontamination des Wasserbades vermutet wird, kann das Wasser mit dem Testverfahren für Urinproben getestet werden. Dazu werden 2,0 mL des Wassers in ein Urinproben-Transportröhrchen gegeben.*

K. Fehlersuche

1. Niedrige Werte bei positiven Kontrollen können durch falsche Temperaturen in verschiedenen Schritten des Tests oder durch Überschreiten der Selektionszeit im Selektionsschritt über die empfohlene Zeit hinaus verursacht werden.
2. Hohe Hintergrundwerte können auftreten, wenn die Selektionszeit im Selektionsschritt verkürzt wird, die Selektionstemperatur nicht korrekt ist oder nach der Zugabe des Selection-Reagenzes nicht ausreichend gemischt wird.
3. Wenn die APTIMA Negativkontrolle für GC, die als „CONTROL + CT PCT / CONTROL – GC NGC“ gekennzeichnet ist, positiv oder unbestimmt für GC ist, siehe *Verfahrenshinweise, Testkontamination*.

TIGRIS DTS System

Die Reagenzien für den APTIMA GC Assay auf dem TIGRIS DTS System sind unten aufgeführt. Die Symbole zur Identifikation der Reagenzien sind neben dem Reagenznamen angegeben.

Im Lieferumfang enthaltene Reagenzien und Materialien

APTIMA Neisseria gonorrhoeae Assay Kit

100 Tests (2 Schachteln und 1 Kontrollenkit) (Kat.-Nr. 303092)

2 x 50 Tests (2 Schachteln und 1 Kontrollenkit) (Kat.-Nr. 302225)

APTIMA Neisseria gonorrhoeae Assay, gekühlte Schachtel (Kasten 1 von 2)
(nach Empfang bei 2 °C bis 8 °C lagern)

Symbol	Bestandteil	Menge	
		Kit für 100 Tests	Kit für 2 x 50 Tests
A	**APTIMA-Amplifikationsreagenz GC** *Nukleinsäuren, getrocknet in gepufferter Lösung mit < 5% Füllstoff.*	1 Fläschchen	2 Fläschchen
E	**APTIMA-Enzymreagenz** *Reverse Transkriptase und RNA-Polymerase, getrocknet in HEPES-gepufferter Lösung mit < 10% Füllreagenz.*	1 Fläschchen	2 Fläschchen
P	**APTIMA-Sondenreagenz GC** *Nicht infektiöse chemilumineszie-rende DNA-Sonden, getrocknet in Succinatpuffer-lösung mit < 5% Detergens.*	1 Fläschchen	2 Fläschchen
TCR-B	**APTIMA-Target-Capture-Reagenz B** *Nicht infektiöse Nukleinsäure in gepufferter Lösung mit < 5% Detergens.*	1 x 0,30 mL	2 x 0,143 mL
	Rekonstitutions-verbindungsstücke		6

APTIMA Neisseria gonorrhoeae Assay, Raumtemperatur-Schachtel (Kasten 2 von 2)
(nach Empfang bei 15 °C bis 30 °C lagern)

Symbol	Bestandteil	Menge	
		Kit für 100 Tests	Kit für 2 x 50 Tests
AR	**APTIMA-Lösung zur Rekonstitution des Amplifikationsreagenzes GC** *Wässrige Lösung mit Konservierungsmitteln.*	1 x 11,9 mL	2 x 6,4 mL
ER	**APTIMA-Enzymrekonstitutionslösung** *HEPES-gepufferte Lösung mit oberflächenaktiver Substanz und Glyzerol.*	1 x 6,3 mL	2 x 3,3 mL
PR	**APTIMA-Sondenrekonstitutionslösung GC** *Sukzinatgepufferte Lösung mit < 5% Detergens.*	1 x 15,2 mL	2 x 7,7 mL

APTIMA Neisseria gonorrhoeae Assay, Raumtemperatur-Schachtel (Kasten 2 von 2)
(nach Empfang bei 15 °C bis 30 °C lagern)

Symbol	Bestandteil	Menge	
		Kit für 100 Tests	Kit für 2 x 50 Tests
S	**APTIMA-Selection-Reagenz** *600 mM Boratpufferlösung mit oberflächenaktiver Substanz.*	1 x 43,0 mL	2 x 20 mL
TCR	**APTIMA-Target-Capture-Reagenz GC** *Gepufferte Salzlösung mit Festphase und Fänger-Oligomeren.*	1 x 26,0 mL	2 x 17 mL
	Rekonstitutions-verbindungsstücke	3	
	Transferpipetten		2
	Hauptchargen-Barcode-Blatt	1 Blatt	1 Blatt

APTIMA Kontrollenkit
(nach Empfang bei 2 °C bis 8 °C lagern)

Symbol	Bestandteil	Menge
PGC/ NCT	**APTIMA Positive Kontrolle, GC / Negative Kontrolle, CT** *Nicht infektiöse GC-Nukleinsäure in gepufferter Lösung mit < 5% Detergens. Jede 400 µL-Probe enthält das geschätzte rRNA-Äquivalent von 50 GC-Zellen (250 fg/Test*).*	5 x 1,7 mL
PCT/ NGC	**APTIMA Positive Kontrolle, CT / Negative Kontrolle, GC** *Nicht infektiöse CT- Nukleinsäure in gepufferter Lösung mit < 5% Detergens. Jede 400 µL-Probe enthält das geschätzte rRNA-Äquivalent von 1 CT IFU (5 fg/Test*).*	5 x 1,7 mL

*Die rRNA-Äquivalente wurden auf der Grundlage der Genomgröße und des geschätzten DNA:RNA-Verhältnisses/Zelle jedes Organismus berechnet.

Erforderliche, jedoch nicht im Lieferumfang enthaltene Materialien

Hinweis: *Materialien, die von Gen-Probe erhältlich sind, sind mit der Katalognummer aufgeführt, sofern nicht anders angegeben.*

	Kat.-Nr.
TIGRIS DTS System	105118
APTIMA Assay Fluids Kit *(APTIMA Waschlösung, APTIMA Puffer für Deaktivierungsflüssigkeit und APTIMA Ölreagenz)*	302382
APTIMA Auto Detect Kit (Auto-Detect-Kit)	301048
APTIMA System Fluid Preservative Kit (Konservierungsmittel-Kit für Systemflüssigkeit)	302380
Spitzen, 1000 µL, leitfähig, zur Flüssigkeitsstandmessung	10612513 (Tecan)

	Kat.-Nr.
TIGRIS DTS System Durchlaufkit mit	301191
Multi-Röhrchen-Einheiten (Multi-Tube Units, MTU) 104772-02	
MTU-/Spitzen-Entsorgungstaschen-Kit 900907	
MTU-Abfalldeflektoren 900931	
MTU-Abfallabdeckungen 105523	
APTIMA-Probentransferkit	301154C
Zur Verwendung mit Proben in PreservCyt-Lösung	
APTIMA Entnahmekit für Vaginalabstrichproben	301162
APTIMA-Unisex-Tupfer-Probenentnahmekit für endozervikale und männliche urethrale Abstriche verwendet werden	301041
APTIMA Urinprobenentnahmekit für Urinproben von Männern und Frauen	301040
APTIMA Urinproben-Transportgefäße für männliche und weibliche Urinproben	105575
Chlorbleiche, 5% bis 7% (0,7 M bis 1,0 M) Natriumhypochloritlösung	—
Wasser für das TIGRIS DTS System	—
Spezifikationen bitte dem Bedienungsanleitung des TIGRIS DTS Systems (TIGRIS DTS System Operator's Manual) entnehmen	
Einweghandschuhe	—
SysCheck Kalibrationsstandard	301078
APTIMA durchlässige Kappen	105668
Ersatzkappen, undurchlässig	103036A
Ersatzkappen für die Kits mit 100 Tests	
Rekonstitutionslösungen für Amplifikations-, Enzym- und Sondenreagenz CL0041 (100 Kappen)	
TCR und Selektionsreagenz 501604 (100 Kappen)	
Ersatzkappen für die Kits mit 50 Tests	—
Rekonstitutionslösungen für Amplifikations-, Enzym- und Sondenreagenz 501603 (100 Kappen)	
TCR und Selektionsreagenz 501604 (100 Kappen)	

Optionale Materialien

	Kat.-Nr.
APTIMA Kontrollenkit	301110
GEN-PROBE Bleichmittelverstärker	302101
für die routinemäßige Reinigung von Oberflächen und Geräten	

Testverfahren mit dem TIGRIS DTS System

Hinweis: *Nähere Verfahrensinformationen zum TIGRIS DTS System finden Sie im TIGRIS DTS System Operator's Manual (Bedienungsanleitung für das TIGRIS DTS System).*

A. Vorbereitung des Arbeitsbereichs

Reinigen Sie Arbeitsflächen, auf denen Reagenzien und Proben vorbereitet werden sollen. Wischen Sie die Arbeitsflächen mit einer Natriumhypochloritlösung von 2,5% bis 3,5% (0,35 M bis 0,5 M) ab. Lassen Sie die Natriumhypochloritlösung mindestens eine 1 Minute auf den Flächen einwirken. Spülen Sie sie anschließend mit Wasser ab. Lassen Sie die Natriumhypochloritlösung nicht trocknen. Decken Sie die Arbeitsfläche, auf der die Reagenzien und Proben vorbereitet werden, mit sauberen, absorbierenden Labortischunterlagen mit Kunststoffunterschicht ab.

B. Reagenzrekonstitution/Vorbereitung eines neuen Kits

Hinweis: *Die Reagenzrekonstitution sollte vor Beginn von Arbeiten mit dem TIGRIS DTS System durchgeführt werden.*

1. Zur Rekonstitution von Amplifikations-GC-, Enzym- und Sonden-GC-Reagenz für die Kits mit 100 Tests und 50 Tests mischen Sie die Flaschen mit lyophilisiertem Reagenz mit der Rekonstitutionslösung. Lassen Sie ggf. gekühlte Rekonstitutionslösungen vor Gebrauch auf Raumtemperatur kommen.
   a. Paaren Sie jede Rekonstitutionslösung mit ihrem lyophilisierten Reagenz. Stellen Sie vor Anbringung des Rekonstitutionsverbindungsstücks sicher, dass die Rekonstitutionslösung und das lyophilisierte Reagenz entsprechend farbcodierte Etiketten aufweisen.
   b. Prüfen Sie die Chargennummern auf dem Hauptchargen-Barcodeblatt um sicherzustellen, dass die entprechenden Reagenzien richtig miteinander gepaart wurden.
   c. Öffnen Sie das Fläschchen mit dem gefriergetrockneten Reagenz und stecken Sie das gekerbte Ende des Rekonstitutionsverbindungsstücks fest in die Fläschchenöffnung (Abb. 2, Schritt 1).
   d. Öffnen Sie die Flasche mit der entsprechenden Rekonstitutionslösung und legen Sie den Deckel auf eine saubere, abgedeckte Arbeitsfläche.
   e. Halten Sie die Flasche mit der Rekonstitutionslösung auf dem Labortisch fest und stecken Sie das andere Ende des Rekonstitutionsverbindungsstücks in die Flaschenöffnung (Abb. 2, Schritt 2).
   f. Drehen Sie die zusammengefügten Flaschen langsam um. Lassen Sie die Lösung aus der Flasche in das Glasfläschchen ablaufen (Abb. 2, Schritt 3).
   g. Mischen Sie die Lösung im Fläschchen durch behutsames Schwenken. Beim Schwenken des Fläschchens Schaumbildung vermeiden (Abb. 2, Schritt 4).
   h. Warten Sie, bis sich das gefriergetrocknete Reagenz aufgelöst hat, und drehen Sie dann die zusammengefügten Flaschen erneut um. Ein Neigungswinkel von 45° ermöglicht, die Schaumbildung auf ein Mindestmaß zu beschränken (Abb. 2, Schritt 5). Lassen Sie die gesamte Flüssigkeit in die Kunststoffflasche zurücklaufen.
   i. Entfernen Sie das Rekonstitionsverbindungsstück und das Glasfläschchen (Abb. 2, Schritt 6).
   j. Verschließen Sie die Flasche wieder.
      - Ziehen Sie bei den 50-Test-Flaschen das obere Etikett ab und werfen Sie es weg. Tragen Sie die Initialen des Bedieners, das Rekonstitutionsdatum und die Chargennummer des lyophilisierten Reagenzes auf dem verbleibenden Etikett ein (Abb. 2, Schritt 7).

- Bei den Flaschen für 100 Tests: Tragen Sie die Initialen des Bedieners und das Rekonstitutionsdatum direkt auf dem Etikett ein (siehe Abb. 3).

k. Werfen Sie das Rekonstitutionsverbindungsstück und das Glasfläschchen weg (Abb. 2, Schritt 8).

Warnung: *Bei der Rekonstitution von Reagenzien Schaumbildung vermeiden. Schaum beeinträchtigt die Füllstandsmessung im TIGRIS DTS System.*

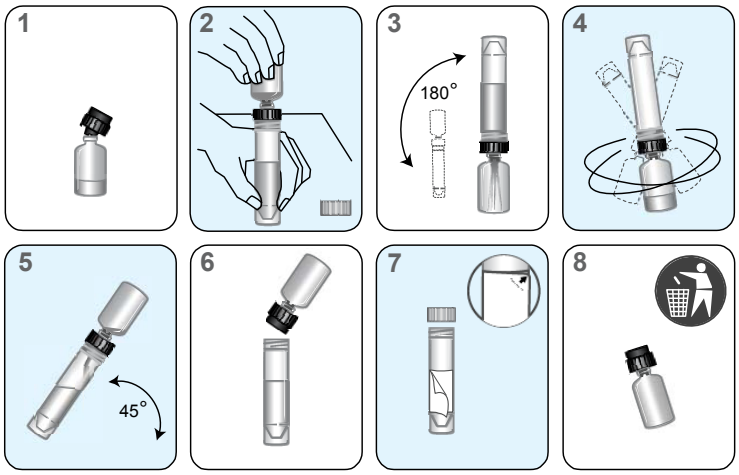

Abb. 2. Rekonstitutionsverfahren mit dem TIGRIS DTS System

2. Vorbereitung von TC-Arbeitsreagenz GC (wTCR GC) für den Kit mit 100 Tests
   a. Paaren Sie die entsprechenden Flaschen TCR GC und TCR-B.
   b. Prüfen Sie die Reagenzchargennummern auf dem Hauptchargen-Barcodeblatt um sicherzustellen, dass die entprechenden Reagenzien im Kit miteinander gepaart wurden.
   c. Öffnen Sie die Flasche mit TCR GC und legen Sie den Deckel auf eine saubere, abgedeckte Arbeitsfläche.
   d. Öffnen Sie die Flasche mit TCR-B und gießen Sie den gesamten Inhalt in die Flasche mit TCR GC. Sie können erwarten, dass eine geringe Menge Flüssigkeit in der TCR-B-Flasche verbleibt.
   e. Verschließen Sie die TCR GC-Flasche und schwenken Sie die Lösung behutsam, um den Inhalt zu mischen. Vermeiden Sie während dieses Schritts Schaumbildung.
   f. Tragen Sie die Initialen des Bedieners und das aktuelle Datum auf dem Etikett ein.
   g. Werfen Sie die TCR-B-Flasche und den Deckel weg.
3. Vorbereitung von TC-Arbeitsreagenz GC (wTCR GC) für den Kit mit 50 Tests
   a. Paaren Sie die entsprechenden Flaschen TCR GC und TCR-B.
   b. Prüfen Sie die Reagenzchargennummern auf dem Hauptchargen-Barcodeblatt um sicherzustellen, dass die entprechenden Reagenzien im Kit miteinander gepaart wurden.
   c. Öffnen Sie die Flasche mit TCR GC und legen Sie den Deckel auf eine saubere, abgedeckte Arbeitsfläche.
   d. Öffnen Sie die Flasche mit TCR-B und legen Sie den Deckel auf eine saubere, abgedeckte Arbeitsfläche.
   e. Entfernen Sie die Transferpipette aus der Verpackung.

f. Transferieren Sie ca. 2 mL TCR GC in die TCR-B-Flasche. In diesem Schitt **nicht** die Transferpipette wegwerfen.

g. Verschließen Sie die TCR-B-Flasche wieder und vermischen Sie den Inhalt durch Umdrehen.

h. Füllen Sie das wTCR GC aus der TCR-B-Flasche wieder in die TCR-GC-Flasche.

i. Wiederholen Sie Schritt h mehrere Male, bis die Mischung in der TCR-B-Flasche wieder in die TCR GC-Flasche zurück transferiert wurde.

j. Verschließen Sie die TCR GC-Flasche und schwenken Sie die Lösung behutsam, um den Inhalt zu mischen. Vermeiden Sie während dieses Schritts Schaumbildung.

k. Tragen Sie die Initialen des Bedieners und das aktuelle Datum auf dem Etikett ein. Tragen Sie die TCR-B-Chargennummer ein.

l. Werfen Sie die TCR-B-Flasche und den Deckel weg. Entsorgen Sie die Transferpipette.

4. Vorbereitung von Selektionsreagenz
   a. Prüfen Sie die Chargennummer auf der Reagenzflasche, um sicherzustellen, dass sie mit der Chargennummer auf dem Hauptchargen-Barcodeblatt übereinstimmt.
   b. Tragen Sie die Initialen des Bedieners und das aktuelle Datum auf dem Etikett ein.

Hinweis: *Mischen Sie alle Reagenzien vor dem Einsetzen in das System gründlich durch vorsichtiges Umdrehen. Beim Umdrehen der Reagenzien Schaumbildung vermeiden.*

C. Vorbereitung von Reagenzien (für bereits rekonstituierte Reagenzien)
   1. Zuvor rekonstituiertes Amplifikations-GC-, Enzym- und Sonden-GC-Reagenz muss vor dem Start des Assays auf Raumtemperatur (15 °C bis 30 °C) gebracht werden.
   2. Wenn das rekonstituierte Sonden-GC-Reagenz einen Niederschlag enthält, der bei Raumtemperatur nicht wieder in Lösung geht, erwärmen Sie die mit Deckel verschlossene Flasche 1 bis 2 Minuten auf eine Temperatur nicht über 62 °C. Nach diesem Erwärmungsschritt kann das Sonden-GC-Reagenz verwendet werden, selbst wenn noch ein Restpräzipitat vorhanden ist. Mischen Sie das Sonden-GC-Reagenz durch Umdrehen, ohne Schaum zu bilden, vor dem Einsetzen in das System.
   3. Mischen Sie alle Reagenzien vor dem Einsetzen in das System gründlich durch vorsichtiges Umdrehen. Beim Umdrehen der Reagenzien Schaumbildung vermeiden.
   4. Füllen Sie Reagenzflaschen nicht nach. Das TIGRIS DTS System erkennt Flaschen, die nachgefüllt wurden, und nimmt sie nicht an.

D. Probenhandhabung
   1. Lassen Sie die Kontrollen und Proben vor der Verarbeitung auf Raumtemperatur kommen.
   2. **Proben nicht mit dem Vortex-Mischer mischen**.
   3. Überprüfen Sie optisch, dass jedes Probenröhrchen eines der folgenden Kriterien erfüllt:
      a. In Unisex-Tupfer-Probentransportröhrchen befindet sich jeweils ein einzelner blauer APTIMA Entnahmetupfer.
      b. In Vagina-Tupfer-Probentransportröhrchen befindet sich jeweils ein einzelner rosafarbener APTIMA Entnahmetupfer.
      c. In Urin-Probentransportröhrchen liegt das End-Urinvolumen zwischen den schwarzen Füllstandsmarkierungen.
      d. In APTIMA Probentransportröhrchen für Liquid-Pap-Proben in PreservCyt-Lösung (PreservCyt Solution liquid Pap) befindet sich kein Tupfer.

4. Prüfen Sie die Probenröhrchen vor dem Laden in den Ständer:
   a. Wenn sich in einem Probenröhrchen im Raum zwischen der Flüssigkeit und dem Deckel Luftblasen befinden, zentrifugieren Sie das Röhrchen 5 Minuten bei 420 RCF, um die Luftblasen zu entfernen.
   b. Wenn ein Probenröhrchen ein geringeres Volumen aufweist, als es in der Regel vorliegt, wenn die Entnahmeanleitung befolgt wurde, zentrifugieren Sie das Röhrchen 5 Minuten bei 420 RCF, um sicherzustellen, dass sich keine Flüssigkeit im Deckel befindet.
   c. Falls der Flüssigkeitsstand in einem Urintransportröhrchen nicht zwischen den beiden schwarzen Markierungslinien liegt, muss die Probe verworfen werden. Nicht in ein überfülltes Reaktionsgefäß stechen.
   d. Wenn eine Urinprobe ein Präzipitat enthält, die Probe bis zu 5 Minuten auf 37 °C erwärmen. Wenn das Präzipitat nicht wieder in Lösung geht, stellen Sie sicher, dass das Präzipitat nicht die Probenabgabe verhindert.

Hinweis: *Bei Nichtbefolgen von Schritt 4a-4c kann aus dem Probenröhrchendeckel Flüssigkeit auslaufen.*

Hinweis: *Pro fehlgeschlagen Röhrchen können bis zu 3 getrennte Aliquote getestet werden. Wenn versucht wird, mehr als 3 Aliquote aus einem Probenröhrchen zu pipettieren, kann es zu Fehlern aufgrund unzureichender Mengen kommen.*

E. Vorbereitung des Systems

Richten Sie das System und die Arbeitsliste entsprechend den Anweisungen im *Bedienungsanleitung für das TIGRIS DTS System* (*TIGRIS DTS System Operator's Manual)* und im nachstehenden Abschnitt *Verfahrenshinweise* ein.

Verfahrenshinweise

A. Kontrollen
   1. Anfangs- und Endkontrollen sind erforderlich, um einen vorschriftsmäßigen Betrieb mit der APTIMA Assay-Software für das TIGRIS DTS System sicherzustellen. Die Positive Kontrolle, CT/ Negative Kontrolle, GC müssen in der ersten Position und der vorletzten Position einer Arbeitsliste sein. Das Etikett dieser Kontrolle ist rosa. Der Etiketttext lautet „CONTROL + CT PCT / CONTROL – GC NGC". Die Positive Kontrolle, GC / Negative Kontrolle, CT müssen in der zweiten Position und der letzten Position einer Arbeitsliste sein. Diese Kontrolle hat ein blau-grünes Etikett. Der Etiketttext lautet „CONTROL + GC PGC / CONTROL – CT NCT".
   2. Jedes APTIMA-Kontrollgefäß kann einmal getestet werden. Wenn versucht wird, mehr als einmal aus dem Röhrchen zu pipettieren, kann es zu Fehlern aufgrund unzureichender Mengen kommen.

B. Temperatur

Raumtemperatur ist definiert als 15 °C bis 30 °C.

C. Handschuhpuder

Wie in jedem Reagenzsystem kann übermäßiger Puder auf manchen Handschuhen eine Kontamination geöffneter Reaktionsgefäße verursachen. Es werden ungepuderte Handschuhe empfohlen.

D. Überwachungsprotokoll für Laborkontamination für das TIGRIS DTS System

Es gibt viele laborspezifische Faktoren, die zu Kontamination beitragen können, darunter Testvolumen, Arbeitsablauf, Krankheitsprävalenz und verschiedene andere Laboraktivitäten. Diese Faktoren sind zu berücksichtigen, wenn die Häufigkeit der Kontaminationsüberwachung festgelegt wird. Die Intervalle zur Kontaminations-überwachung sollten im Hinblick auf die Praktiken und Verfahren jedes Labors festgelegt werden.

Zur Überwachung auf Laborkontamination kann das folgende Verfahren mit dem APTIMA-Unisex-Tupfer-Probenentnahmekit für endozervikale und männliche urethrale Abstrichproben durchgeführt werden:

1. Beschriften Sie die Tupfertransportgefäße mit den Zahlen, die den zu testenden Bereichen entsprechen.
2. Nehmen Sie den Abstrichtupfer (blauer Schaft mit grünem Aufdruck) aus der Verpackung, feuchten Sie den Tupfer im Tupfertransportmedium an und nehmen Sie im ausgewiesenen Bereich mit einer Kreisbewegung einen Abstrich auf.
3. Setzen Sie den Tupfer sofort in das Transportgefäß ein.
4. Den Tupferschaft an der Einkerbung vorsichtig brechen. Dabei darauf achten, dass der Inhalt nicht verspritzt wird.
5. Verschließen Sie das Tupfertransportgefäß wieder fest.
6. Wiederholen Sie Schritt 2 bis 5 für alle Abstrichbereiche.

Wenn die Ergebnisse GC-positiv oder unbestimmt sind, siehe *Testauswertung — Qualitätskontrolle/Patientenergebnisse* für weitere, für das TIGRIS DTS System spezifische Informationen zur Kontaminationsüberwachung. Siehe die *Bedienungsanleitung für das TIGRIS DTS System (TIGRIS DTS System Operator's Manual).*

PANTHER System

Die Reagenzien für den APTIMA GC Assay auf dem PANTHER System sind unten aufgeführt. Die Symbole zur Identifikation der Reagenzien sind neben dem Reagenznamen angegeben.

Im Lieferumfang enthaltene Reagenzien und Materialien

APTIMA Neisseria gonorrhoeae Assay Kit, 100 Tests (2 Schachteln und 1 Kontrollenkit) (Kat.-Nr. 302927)

APTIMA Neisseria gonorrhoeae Assay, gekühlte Schachtel (Schachtel 1 von 2) (nach Empfang bei 2 °C bis 8 °C lagern)

Symbol	Bestandteil	Menge
A	**APTIMA-Amplifikationsreagenz GC** *Nukleinsäuren, getrocknet in gepufferter Lösung mit < 5% Füllstoff.*	1 Fläschchen
E	**APTIMA-Enzymreagenz GC** *Reverse Transkriptase und RNA-Polymerase, getrocknet in HEPES-gepufferter Lösung mit < 10% Füllreagenz.*	1 Fläschchen
P	**APTIMA-Sondenreagenz GC** *Nicht infektiöse chemilumineszie-rende DNA-Sonden, getrocknet in Succinatpuffer-lösung mit < 5% Detergens.*	1 Fläschchen
TCR-B	**APTIMA Target-Capture-Reagenz B GC** *Nicht infektiöse Nukleinsäuren in gepufferter Lösung mit < 5% Detergens.*	1 x 0,30 mL

APTIMA Neisseria gonorrhoeae Assay, Raumtemperatur-Schachtel (Schachtel 2 von 2) (nach Empfang bei 15 °C bis 30 °C lagern)

Symbol	Bestandteil	Menge
AR	**APTIMA-Lösung zur Rekonstitution des Amplifikationsreagenzes GC** *Wässrige Lösung mit Konservierungsmitteln.*	1 x 11,9 mL
ER	**APTIMA Enzymrekonstitutionslösung GC** *HEPES-gepufferte Lösung mit oberflächenaktiver Substanz und Glyzerol.*	1 x 6,3 mL
PR	**APTIMA-Sondenrekonstitutionslösung GC** *Sukzinatgepufferte Lösung mit < 5% Detergens.*	1 x 15,2 mL
S	**APTIMA Selektionsreagenz GC** *600 mM Boratpufferlösung mit oberflächenaktiver Substanz.*	1 x 43,0 mL
TCR	**APTIMA-Target-Capture-Reagenz GC** *Gepufferte Salzlösung mit Festphase und Fänger-Oligomeren.*	1 x 26,0 mL
	Rekonstitutions-verbindungsstücke	3
	Hauptchargen-Barcode-Blatt	1 Blatt

APTIMA Kontrollenkit
(nach Empfang bei 2 °C bis 8 °C lagern)

Symbol	Bestandteil	Menge
PGC/NCT	**APTIMA Positive Kontrolle, GC / Negative Kontrolle, CT** *Nicht infektiöse GC-Nukleinsäure in gepufferter Lösung mit < 5% Detergens. Jede 400 µL-Probe enthält das geschätzte rRNA-Äquivalent von 50 GC-Zellen (250 fg/Test*).*	5 x 1,7 mL
PCT/NGC	**APTIMA Positivkontrolle, CT / Negativkontrolle, GC** *Nicht infektiöse CT- Nukleinsäure in gepufferter Lösung mit < 5% Detergens. Jede 400 µL-Probe enthält das geschätzte rRNA-Äquivalent von 1 CT IFU (5 fg/Test*).*	5 x 1,7 mL

*Die rRNA-Äquivalente wurden auf der Grundlage der Genomgröße und des geschätzten DNA:RNA-Verhältnisses/Zelle jedes Organismus berechnet.

Erforderliche, jedoch nicht im Lieferumfang enthaltene Materialien

Hinweis: *Materialien, die von Gen-Probe erhältlich sind, sind mit der Katalognummer aufgeführt, sofern nicht anders angegeben.*

	Kat.-Nr.
PANTHER System	303095
APTIMA Assay Fluids Kit *(APTIMA Waschlösung, APTIMA Puffer für Deaktivierungsflüssigkeit und APTIMA Ölreagenz)*	303014 (1000 Tests)
APTIMA Auto Detect Kit (Auto-Detect-Kit)	303013 (1000 Tests)
Multi-Röhrchen-Einheiten (MTUs)	104772-02
PANTHER Entsorgungsbeutel-Kit	902731
PANTHER Abfallbehälterabdeckung	902714
Oder PANTHER Durchlaufkit *enthält MTUs, Entsorgungsbeutel, Abfallbehälterabdeckungen, Assay Fluids und Auto Detect-Reagenzien*	303096 (5000 Tests)
Spitzen, 1000 µL, leitfähig, zur Flüssigkeitsstandmessung	10612513 (Tecan)
APTIMA-Probentransferkit *Zur Verwendung mit Proben in PreservCyt-Lösung*	301154C
APTIMA Entnahmekit für Vaginalabstrichproben	301162
APTIMA-Unisex-Tupfer-Probenentnahmekit für endozervikale und männliche urethrale Abstriche verwendet werden	301041
APTIMA Urinprobenentnahmekit für Urinproben von Männern und Frauen	301040
APTIMA Urinproben-Transportgefäße für männliche und weibliche Urinproben	105575
Chlorbleiche, 5% bis 7% (0,7 M bis 1,0 M) Natriumhypochloritlösung	—
Einweghandschuhe	—

SysCheck Kalibrationsstandard	301078
APTIMA durchlässige Kappen	105668
Ersatzkappen, undurchlässig	103036A
Ersatzkappen für die Kits mit 100 Tests	—
Rekonstitutionslösungen für Amplifikations-, Enzym- und Sondenreagenz	*CL0041 (100 Kappen)*
TCR und Selektionsreagenz	*501604 (100 Kappen)*

Optionale Materialien

	Kat.-Nr.
APTIMA Kontrollenkit	301110
GEN-PROBE Bleichmittelverstärker *für die routinemäßige Reinigung von Oberflächen und Geräten*	302101

Testverfahren mit dem PANTHER System

Hinweis: *Nähere Verfahrensinformationen zum PANTHER System finden Sie im Bedienungsanleitung für das PANTHER System (PANTHER System Operator's Manual).*

A. Vorbereitung des Arbeitsbereichs

1. Reinigen Sie Arbeitsflächen, auf denen Reagenzien und Proben vorbereitet werden sollen. Wischen Sie die Arbeitsflächen mit einer Natriumhypochloritlösung von 2,5% bis 3,5% (0,35 M bis 0,5 M) ab. Lassen Sie die Natriumhypochloritlösung mindestens eine 1 Minute auf den Flächen einwirken. Spülen Sie sie anschließend mit Wasser ab. Lassen Sie die Natriumhypochloritlösung nicht trocknen. Decken Sie die Arbeitsfläche, auf der die Reagenzien und Proben vorbereitet werden, mit sauberen, absorbierenden Labortischunterlagen mit Kunststoffunterschicht ab.

B. Reagenzrekonstitution/Vorbereitung eines neuen Kits

Hinweis: *Die Reagenzrekonstitution sollte vor Beginn von Arbeiten mit dem PANTHER System durchgeführt werden.*

1. Mischen Sie zur Rekonstitution von Amplifikations-GC-, Enzym-GC- und Sonden-GC-reagenz die jeweilige Flasche mit gefriergetrocknetem Reagenz mit der Rekonstitutionslösung. Wenn sie gekühlt sind, lassen Sie die Rekonstitutionslösungen vor dem Gebrauch auf Raumtemperatur kommen.
   a. Paaren Sie jede Rekonstitutionslösung mit ihrem lyophilisierten Reagenz. Stellen Sie vor Anbringung des Rekonstitutionsverbindungsstücks sicher, dass die Rekonstitutionslösung und das lyophilisierte Reagenz entsprechend farbcodierte Etiketten aufweisen.
   b. Prüfen Sie die Chargennummern auf dem Hauptchargen-Barcodeblatt um sicherzustellen, dass die entprechenden Reagenzien richtig miteinander gepaart wurden.
   c. Öffnen Sie das Fläschchen mit dem lyophilisierten Reagenz und stecken Sie das gekerbte Ende des Rekonstitutionsverbindungsstücks fest in die Fläschchenöffnung (Abb. 3, Schritt 1).
   d. Öffnen Sie die entsprechende Rekonstitutionslösung und legen Sie den Deckel auf eine saubere, abgedeckte Arbeitsfläche.

e. Halten Sie die Flasche mit der Lösung auf dem Labortisch fest und stecken Sie das andere Ende des Rekonstitutionsverbindungsstücks in die Flaschenöffnung (Abb. 3, Schritt 2).

f. Drehen Sie die zusammengefügten Flaschen langsam um. Lassen Sie die Lösung aus der Flasche in das Glasfläschchen ablaufen (Abb. 3, Schritt 3).

g. Mischen Sie die Lösung in der Flasche durch behutsames Schwenken. Vermeiden Sie Schaumbildung beim Schwenken der Flasche (Abb. 3, Schritt 4).

h. Warten Sie, bis sich das gefriergetrocknete Reagenz aufgelöst hat, und drehen Sie dann die zusammengefügten Flaschen erneut um. Ein Neigungswinkel von 45° ermöglicht, die Schaumbildung auf ein Mindestmaß zu beschränken (Abb. 3, Schritt 5). Lassen Sie die gesamte Flüssigkeit in die Kunststoffflasche zurücklaufen.

i. Entfernen Sie das Rekonstitutionsverbindungsstück und das Glasfläschchen (Abb. 3, Schritt 6).

j. Verschließen Sie die Plastikflasche. Tragen Sie die Initialen des Bedieners und das Rekonstitutionsdatum auf dem Etikett ein (Abb. 3, Schritt 7).

k. Entsorgen Sie das Verbindungsstück und das Fläschchen (Abb. 3, Schritt 8).

Warnung: *Bei der Rekonstitution von Reagenzien Schaumbildung vermeiden. Schaum beeinträchtigt die Füllstandsmessung im PANTHER System.*

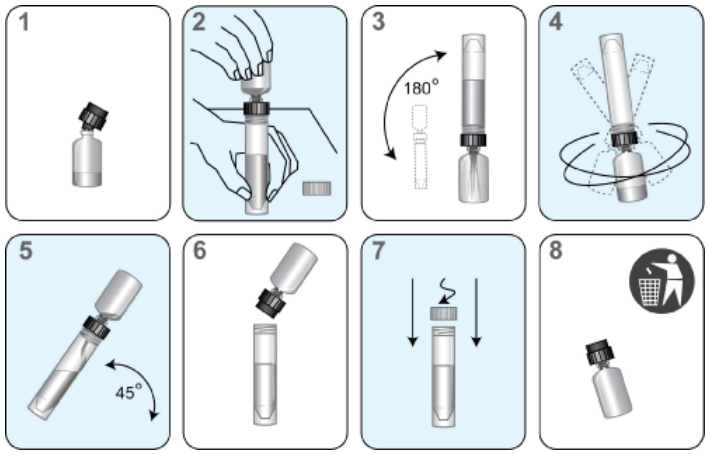

Abb. 3. Rekonstitutionsverfahren mit dem PANTHER System

2. Vorbereitung von Target-Capture-Arbeitsreagenz GC (wTCR GC)

a. Paaren Sie die entsprechenden Flaschen TCR GC und TCR-B.

b. Prüfen Sie die Reagenzchargennummern auf dem Hauptchargen-Barcodeblatt um sicherzustellen, dass die entprechenden Reagenzien im Kit miteinander gepaart wurden.

c. Öffnen Sie die Flasche mit TCR GC und legen Sie den Deckel auf eine saubere, abgedeckte Arbeitsfläche.

d. Öffnen Sie die Flasche mit TCR-B und gießen Sie den gesamten Inhalt in die Flasche mit TCR GC. Sie können erwarten, dass eine geringe Menge Flüssigkeit in der TCR-B-Flasche verbleibt.

e. Verschließen Sie die TCR GC-Flasche und schwenken Sie die Lösung behutsam, um den Inhalt zu mischen. Vermeiden Sie während dieses Schritts Schaumbildung.

f. Tragen Sie die Initialen des Bedieners und das aktuelle Datum auf dem Etikett ein.

g. Werfen Sie die TCR-B-Flasche und den Deckel weg.

3. Vorbereitung von Selektionsreagenz
    a. Prüfen Sie die Chargennummer auf der Reagenzflasche, um sicherzustellen, dass sie mit der Chargennummer auf dem Hauptchargen-Barcodeblatt übereinstimmt.
    b. Tragen Sie die Initialen des Bedieners und das aktuelle Datum auf dem Etikett ein.

Hinweis: *Mischen Sie Amplifikations-GC-, Enzym-GC, Sonden-GC- und Selektions-GC-Reagenz vor dem Einsetzen in das System gründlich durch vorsichtiges Umdrehen. Beim Umdrehen der Reagenzien Schaumbildung vermeiden.*

C. Vorbereitung von Reagenzien (für bereits rekonstituierte Reagenzien)
1. Zuvor rekonstituierte Sonden-, Amplifikations-, Enzym- und Sondenreagenzien müssen vor dem Start des Tests auf Raumtemperatur (15 °C bis 30 °C) gebracht werden.
2. Wenn das rekonstituierte Sondenreagenz einen Niederschlag enthält, der bei Raumtemperatur nicht wieder in Lösung geht, erwärmen Sie die mit Deckel verschlossene Flasche 1 bis 2 Minuten auf eine Temperatur nicht über 62 °C. Nach diesem Erwärmungsschritt kann das Sondenreagenz verwendet werden, selbst wenn noch ein Restpräzipitat vorhanden ist. Mischen Sie das Sondenreagenz durch Umdrehen, ohne Schaum zu bilden, vor der Ladung ins System.
3. Mischen Sie alle Reagenzien vor dem Einsetzen in das System gründlich durch vorsichtiges Umdrehen. Beim Umdrehen der Reagenzien Schaumbildung vermeiden.
4. Füllen Sie Reagenzflaschen nicht nach. Das PANTHER System erkennt Flaschen, die nachgefüllt wurden, und nimmt sie nicht an.

D. Probenhandhabung
1. Lassen Sie die Kontrollen und Proben vor der Verarbeitung auf Raumtemperatur kommen.
2. **Proben nicht mit dem Vortex-Mischer mischen.**
3. Überprüfen Sie optisch, dass jedes Probenröhrchen eines der folgenden Kriterien erfüllt:
    a. In Unisex-Tupfer-Probentransportröhrchen befindet sich jeweils ein einzelner blauer APTIMA Entnahmetupfer.
    b. In Vagina-Tupfer-Probentransportröhrchen befindet sich jeweils ein einzelner rosafarbener APTIMA Entnahmetupfer.
    c. In Urin-Probentransportröhrchen liegt das End-Urinvolumen zwischen den schwarzen Füllstandsmarkierungen.
    d. In APTIMA Probentransportröhrchen für Liquid-Pap-Proben in PreservCyt-Lösung (PreservCyt Solution liquid Pap) befindet sich kein Tupfer.
4. Prüfen Sie die Probenröhrchen vor dem Laden in den Ständer:
    a. Wenn sich im Transportgefäß im Raum zwischen der Flüssigkeit und dem Deckel Luftblasen befinden, zentrifugieren Sie das Reaktionsgefäß 5 Minuten bei 420 RCF, um die Luftblasen zu entfernen.
    b. Wenn ein Transportrgefäß ein geringeres Volumen aufweist, als es in der Regel vorliegt, wenn die Sammelanleitung befolgt wurde, zentrifugieren Sie das Reaktionsgefäß 5 Minuten bei 420 RCF, um sicherzustellen, dass sich keine Flüssigkeit im Deckel befindet.
    c. Falls der Flüssigkeitsstand in einem Urintransportröhrchen nicht zwischen den beiden schwarzen Markierungslinien liegt, muss die Probe verworfen werden. Nicht in ein überfülltes Reaktionsgefäß stechen.
    d. Wenn eine Urinprobe ein Präzipitat enthält, die Probe bis zu 5 Minuten auf 37 °C erwärmen. Wenn das Präzipitat nicht wieder in Lösung geht, stellen Sie sicher, dass das Präzipitat nicht die Probenabgabe verhindert.

Hinweis: *Bei Nichtbefolgen von Schritt 4a–c kann aus dem Probenröhrchendeckel Flüssigkeit auslaufen.*

Hinweis: *Pro fehlgeschlagen Röhrchen können bis zu 3 getrennte Aliquote getestet werden. Wenn versucht wird, mehr als 3 Aliquote aus einem Probenröhrchen zu pipettieren, kann es zu Fehlern aufgrund unzureichender Mengen kommen.*

E. Vorbereitung des Systems

1. Richten Sie das System entsprechend den Anweisungen im *Bedienungsanleitung für das PANTHER System (PANTHER System Operator's Manual)* und im Abschnitt *Verfahrenshinweise* ein. Achten Sie darauf, dass Reagenzienständer und TCR-Adapter geeigneter Größe verwendet werden.
2. Laden Sie die Proben.

Verfahrenshinweise

A. Kontrollen

1. Um einen vorschriftsmäßigen Betrieb mit der APTIMA Assay-Software für das PANTHER System sicherzustellen, ist ein Paar Kontrollen erforderlich. Die Röhrchen mit Positivkontrolle, CT / Negativkontrolle, GC und Positivkontrolle, GC / Negativkontrolle, CT können in eine beliebige Ständerposition bzw. Bahn im Probenfach des PANTHER Systems geladen werden. Die Pipettierung der Patientenproben beginnt, sobald eine der beiden folgenden Bedingungen erfüllt ist:
   a. Das System bearbeitet derzeit ein Kontrollenpaar.
   b. Gültige Ergebnisse für die Kontrollen werden auf dem System registriert.
2. Sobald die Kontrollenröhrchen für ein bestimmtes Reagenzienkit pipettiert wurden und in Bearbeitung sind, können mit dem zugehörigen Assayreagenzienkit bis zu 24 Stunden lang Patientenproben ausgeführt werden, **es sei denn, dass:**
   a. die Kontrollen ungültig sind.
   b. das zugehörige Assayreagenzienkit aus dem System entfernt wird.
   c. die Haltbarkeit des zugehörigen Assayreagenzienkits überschritten ist.
3. Jedes APTIMA-Kontrollgefäß kann einmal getestet werden. Wenn versucht wird, mehr als einmal aus dem Röhrchen zu pipettieren, kann es zu Fehlern aufgrund unzureichender Mengen kommen.

B. Temperatur

Raumtemperatur ist definiert als 15 °C bis 30 °C.

C. Handschuhpuder

Wie in jedem Reagenzsystem kann übermäßiger Puder auf manchen Handschuhen eine Kontamination geöffneter Reaktionsgefäße verursachen. Es werden ungepuderte Handschuhe empfohlen.

D. Überwachungsprotokoll für Laborkontamination für das PANTHER System

Es gibt viele laborspezifische Faktoren, die zu Kontamination beitragen können, darunter Testvolumen, Arbeitsablauf, Krankheitsprävalenz und verschiedene andere Laboraktivitäten. Diese Faktoren sind zu berücksichtigen, wenn die Häufigkeit der Kontaminationsüberwachung festgelegt wird. Die Intervalle zur Kontaminations-überwachung sollten im Hinblick auf die Praktiken und Verfahren jedes Labors festgelegt werden.

Zur Überwachung auf Laborkontamination kann das folgende Verfahren mit dem APTIMA-Unisex-Tupfer-Probenentnahmekit für endozervikale und männliche urethrale Abstrichproben durchgeführt werden:

1. Beschriften Sie die Tupfertransportgefäße mit den Zahlen, die den zu testenden Bereichen entsprechen.
2. Nehmen Sie den Abstrichtupfer (blauer Schaft mit grünem Aufdruck) aus der Verpackung, feuchten Sie den Tupfer im Tupfertransportmedium an und nehmen Sie im ausgewiesenen Bereich mit einer Kreisbewegung einen Abstrich auf.
3. Setzen Sie den Tupfer sofort in das Transportgefäß ein.
4. Den Tupferschaft an der Einkerbung vorsichtig brechen. Dabei darauf achten, dass der Inhalt nicht verspritzt wird.
5. Verschließen Sie das Tupfertransportgefäß wieder fest.
6. Wiederholen Sie Schritt 2 bis 5 für alle Abstrichbereiche.

Wenn die Ergebnisse GC-positiv oder unbestimmt sind, lesen Sie unter *Testauswertung — Qualitätskontrolle/Patientenergebnisse* nach. Weitere, für das PANTHER System spezifische Informationen zur Kontaminationsüberwachung erteilt der Technische Kundendienst von Gen-Probe.

Testauswertung — Qualitätskontrolle/Patientenergebnisse

A. Testauswertung

Die Assayergebnisse werden von der APTIMA Assay-Software mit dem GC-Protokoll automatisch ausgewertet. Ein Test kann gemäß Feststellung anhand der Gesamt-RLU im Nachweisschritt negativ, unbestimmt, positiv oder ungültig sein (siehe unten). Ein Testergebnis kann aufgrund von RLU-Werten, die außerhalb der normal erwarteten Bereiche liegen, ungültig sein. Anfängliche unbestimmte oder ungültige Testergebnisse sollten durch Testwiederholung neu bestimmt werden.

Testauswertung	Gesamt-RLU (x1000)
Negativ	0* bis < 50
Unbestimmt	50 bis < 100
Niedriger RLU-Wert positiv[1,2,3]	100 bis < 2000
Positiv[1,2]	2000 bis < 12.000
Ungültig	0* oder > 12.000

* Ein Ergebnis von Null (0 x 1000) RLU auf dem Laufbericht stellt einen Wert zwischen Null und 999 RLU dar. RLU-Werte von unter 160 auf DTS-Systemen oder 690 auf dem TIGRIS DTS System oder PANTHER System werden als ungültig berichtet.

[1] Die CDC-Guidelines sehen vor: „Man sollte zusätzliche Routinetests bei Personen mit positiven CT oder GC-Screeningtests erwägen, wenn die Risikofaktor-Informationen oder tatsächliche Surveys aufzeigen, dass die Prävalenz gering ist, was einen niedrigeren PPV-Wert ergibt (z.B. < 90%).“ Nähere Einzelheiten zu Zusatztests und Patientenbehandlung nach einem positiven Screeningtest entnehmen Sie bitte den CDC-Guidelines (1).

[2] Siehe Tabelle 3 für RLU-Verteilung der Ergebnisse. Die RLU-Größe ist kein Hinweis auf die Organismenkonzentration in der Probe.

[3] Im niedrigen positiven Bereich weisen die Daten darauf hin, dass positive Ergebnisse sorgfältig ausgewertet werden sollten, unter der Annahme, dass die Wahrscheinlichkeit eines falsch positiven Ergebnisses höher sein kann als die eines wahren positiven Ergebnisses.

B. Ergebnisse und Akzeptanz von Qualitätskontrollen

Die APTIMA Negativkontrolle für GC, mit der Kennzeichnung „CONTROL + CT PCT / CONTROL – GC NGC“, und die APTIMA Positivkontrolle für GC, mit der Kennzeichnung „CONTROL + GC PGC / CONTROL – CT NCT“, fungieren als Kontrollen für die Assayschritte Target Capture, Amplifikation und Nachweis. Es können weitere Kontrollen für Zytolyse und RNA-Stabilisierung mit aufgenommen werden, um den Richtlinien oder Anforderungen von örtlichen, regionalen und/oder staatlichen Bestimmungen und Akkreditierungsorganisationen zu genügen. Die Positivkontrolle für GC, mit der Bezeichnung „CONTROL + GC PGC / CONTROL – CT NCT“, enthält nicht infektiöse GC-rRNA. Bei Bedarf können zusätzliche Kontrollen als Kit bestellt werden. Die richtige Vorbereitung der Proben wird visuell durch das Vorhandensein eines einzigen APTIMA-Probenabstrichtupfers im Probentransportgefäß, ein endgültiges Urinvolumen zwischen den schwarzen Fülllinien eines Urinproben-Transportgefäßes oder die Abwesenheit eines Abstrichtupfers im APTIMA-Probentransportgefäß für Papanicolaou-Abstriche (liquid Pap) bestätigt.

Die positiven Kontrollen müssen die folgenden Testergebnisse produzieren:

Kontrolle	Gesamt-RLU (x1000)	GC-Ergebnis
Positivkontrolle, CT/ Negativkontrolle, GC	0* und < 50	Negativ
Positivkontrolle, GC / Negativkontrolle, CT	≥ 100* und < 12.000	Positiv

* Ein Ergebnis von Null (0 x 1000) RLU auf dem Laufbericht stellt einen Wert zwischen Null und 999 RLU dar. RLU-Werte von unter 160 auf DTS-Systemen oder 690 auf dem TIGRIS DTS System oder PANTHER System werden als ungültig berichtet.

1. Die APTIMA Assay-Software beurteilt die Kontrollen automatisch entsprechend den vorstehenden Kriterien und berichtet den Run-Status als PASS (ERFOLGREICH), wenn die Laufkontrollkriterien erfüllt sind, und FAIL (FEHLGESCHLA-GEN), wenn die Laufkontrollkriterien nicht erfüllt sind.
2. Wenn der Run-Status FAIL (FEHLGESCHLAGEN) ist, sind alle Testergebnisse im gleichen Lauf ungültig und dürfen nicht berichtet werden.
3. Jedes Labor sollte entsprechende Kontrollverfahren implementieren, um die Anforderungen der CLIA-Vorschriften (Abschnitt 493.1256) zu erfüllen.

Hinweis: *Siehe Fehlersuche oder kontaktieren Sie den Technischen Kundendienst von Gen-Probe, wenn Sie Hilfe bei Kontrollen außerhalb des zulässigen Bereichs mit den DTS-Systemen benötigen.*

4. Ein TIGRIS DTS System-Parameter ermöglicht jedem Standort die Angabe einer „Kontrollensegmentierungs“-Häufigkeit, wonach zusätzliche Sätze von Kontrollen an definierten Intervallen in die Arbeitsliste gesetzt werden können. Wenn dieser Parameter angegeben wird, erfordert das TIGRIS DTS System, dass ein Satz Kontrollen nach der festgelegten Zahl von Proben im Kontrollensegment gesetzt wird. Das TIGRIS DTS System beurteilt automatisch jede Kontrolle in der Arbeitsliste gemäß den vorstehenden Kriterien und macht alle Proben im betroffenen Kontrollensegment (bzw. -segmenten) ungültig, wenn die Kontrollkriterien nicht erfüllt sind. Weitere Einzelheiten finden Sie in der *Bedienungsanleitung des TIGRIS DTS Systems (TIGRIS DTS System Operator’s Manual).*
5. Negative Kontrollen sind u.U. bei der Überwachung von zufälliger Kontamination nicht effektiv. Siehe *Analytische Leistung des TIGRIS DTS Systems* für die Ergebnisse einer analytischen High-Target-Kontaminationsuntersuchung, die durchgeführt wurde, um die Kontrolle von Verschleppung auf dem TIGRIS DTS System nachzuweisen. Siehe *Analytische Leistung des PANTHER Systems* für die Ergebnisse einer analytischen High-Target-Kontaminationsuntersuchung, die durchgeführt wurde, um die Kontrolle von Verschleppung auf dem PANTHER System nachzuweisen.

C. Probenvorbereitungskontrolle (optional)

Die APTIMA Negativkontrolle für GC, mit der Kennzeichnung „CONTROL + CT PCT / CONTROL – GC NGC“, und die APTIMA Positivkontrolle für GC, mit der Kennzeichnung „CONTROL + GC PGC / CONTROL – CT NCT“, fungieren als Kontrollen für die Assayschritte Target Capture, Amplifikation und Nachweis und müssen in jedem Assaylauf mitgeführt werden. Bei Bedarf können Kontrollen für Zytolyse und RNA-Stabilisierung entsprechend den Anforderungen der entsprechenden Akkreditierungsorganisationen oder der Laborverfahren der einzelnen Einrichtungen im Test mitgeführt werden. Bekannte positive Proben können als Kontrollen dienen, indem sie in Verbindung mit unbekannten Proben vorbereitet und getestet werden. Proben, die als Vorbereitungskontrollen verwendet werden, müssen gemäß den Informationen in der

Packungsbeilage gelagert, gehandhabt und getestet werden. Die Probenvorbereitungskontrollen sollten in der gleichen Weise ausgewertet werden, wie es für die Patiententestproben beschrieben wurde. Siehe *Testauswertung — Qualitätskontrolle/Patientenergebnisse*, *Patienten-Testergebnisse*.

D. Patienten-Testergebnisse

1. Wenn die Kontrollen in einem Lauf nicht die erwarteten Ergebnisse produzieren, dürfen die Testergebnisse für die Patientenproben des gleichen Laufs nicht berichtet werden.
2. Ergebnisse von Abstrichproben, Urinproben und Papanicolaou-Abstrichen in PreservCyt-Lösung (PreservCyt Solution liquid Pap). Siehe die *Anmerkungen* unten.

   a. Erste Ergebnisse

GC Pos*	Positiv für GC-rRNA.
GC Neg	Vermutlich negativ für GC-rRNA.
GC unbest.	Die Probe sollte neu getestet werden.
Ungültig	Die Probe sollte neu getestet werden.

   b. Ergebnisse des wiederholten Tests

GC Pos*	Positiv für GC-rRNA.
GC Neg	Vermutlich negativ für GC-rRNA.
GC unbest.	Unbestimmt. Neue Probe entnehmen.
Ungültig	Unbestimmt. Neue Probe entnehmen.

*Positive Probenergebnisse mit niedrigem RLU sind in dieser Kategorie enthalten. Siehe oben unter *Testauswertung — Qualitätskontrolle/Patientenergebnisse*.

Anmerkungen

- Das erste gültige, nicht unbestimmte Ergebnis für jedes Analyt ist das Ergebnis, das berichtet werden sollte.
- Eine sorgfältige Betrachtung der Leistungsdaten wird bei der Auswertung von APTIMA GC Assayergebnissen für asymptomatische Personen oder Personen in Populationen mit geringer Prävalenz empfohlen.
- Ein negatives Ergebnis schließt nicht das Vorliegen einer GC-Infektion aus, weil die Ergebnisse von der angemessenen Probenentnahme, Abwesenheit von Inhibitoren und ausreichender nachzuweisender rRNA abhängen. Die Testergebnisse können durch eine unsachgemäße Probenentnahme, falsche Probenlagerung, technische Fehler, Probenverwechslung oder Target-Konzentrationen unter der Nachweisgrenze des Assays beeinträchtigt sein.
- Der Test von Endozervikalproben wird bei Patientinnen empfohlen, bei denen der klinische Verdacht auf eine Chlamydien- oder Gonokokkeninfektion besteht. Wenn sowohl ein Papanicolaou-Abstrich als auch eine Endozervix-Abstrichprobe entnommen werden, muss der Papanicolaou-Abstrich in PreservCyt-Lösung (PreservCyt Solution liquid Pap) vor der Endozervix-Abstrichprobe entnommen werden.

Einschränkungen

A. Dieser Test darf nur von Mitarbeitern durchgeführt werden, die im Verfahren unterwiesen wurden. Eine Nichtbefolgung der Anweisungen in dieser Packungsbeilage kann fehlerhafte Ergebnisse zur Folge haben.

B. Die Auswirkungen von Tamponverwendung, Intimduschen und variablen Faktoren bei der Probenentnahme auf den Nachweis von GC wurden nicht beurteilt.

C. Die Präsenz von Schleimhaut in Endozervikalproben beeinträchtigt nicht die Detektion von GC mit dem APTIMA GC Assay. Um jedoch die sachgemäße endozervikale Probenentnahme sicherzustellen, sollte übermäßige Schleimhaut entfernt werden.

D. Die Entnahme von Urinproben, Vaginalabstrichen und Papanicolaou-Abstrichen in PreservCyt-Lösung (PreservCyt Solution liquid Pap) soll kein Ersatz für Zervixuntersuchungen und endozervikale Proben zur Diagnose von urogenitalen Infektionen bei Frauen sein. Die Patientinnen können Zervizitis, Urethritis, Harnwegsinfektionen oder Vaginalinfektionen mit anderen Ursachen oder gleichzeitige Infektionen durch andere Erreger haben.

E. Der APTIMA GC Assay ist nicht zur Beurteilung bei Verdacht auf sexuellen Missbrauch oder für andere rechtsmedizinische Indikationen vorgesehen. Bei Patienten, wo ein falsch positives Ergebnis eine nachteilige psychosoziale Auswirkung haben kann, empfehlen die CDC einen Wiederholungstest unter Einsatz einer alternativen Technologie (1).

F. Zuverlässige Ergebnisse hängen von einer angemessenen Probenentnahme ab. Weil das für diesen Test verwendete Transportsystem keine mikroskopische Beurteilung der Eignung der Probe zulässt, ist eine Schulung des klinischen Personals in den ordnungsgemäßen Probenentnahmetechniken erforderlich. Bitte lesen Sie dazu die Packungsbeilage des entsprechenden APTIMA Probenentnahmekits.

G. Ein therapeutischer Misserfolg oder Erfolg kann nicht mit dem APTIMA GC Assay bestimmt werden, da Nukleinsäure nach der entsprechenden antimikrobiellen Therapie fortbestehen kann.

H. Die Ergebnisse des APTIMA GC Assays sollten in Verbindung mit anderen dem Arzt verfügbaren Labor- oder klinischen Daten ausgewertet werden.

I. Ein negatives Ergebnis schließt eine mögliche Infektion nicht aus, weil die Ergebnisse von der angemessenen Probenentnahme abhängen. Die Testergebnisse können durch eine unsachgemäße Probenentnahme, technische Fehler, Probenverwechslung oder Target-Konzentrationen unter der Detektionsgrenze des Tests beeinträchtigt sein.

J. Der APTIMA GC Assay liefert qualitative Ergebnisse. Daher kann keine Korrelation zwischen der Größe eines positiven Testmesssignals und der Anzahl der Organismen in einer Probe aufgestellt werden.

K. Für klinische Studien mit Vaginalabstrichen, Endozervikalabstrichen, männlichen urethralen Abstrichen und Urinproben wird die Leistung zum Nachweis von GC von Populationen mit hoher Prävalenz abgeleitet. Positive Ergebnisse bei Populationen mit niedriger Prävalenz sollten sorgfältig interpretiert werden, unter der Annahme, dass die Wahrscheinlichkeit eines falsch positiven Ergebnisses höher sein kann als die eines wahren positiven Ergebnisses.

L. Für die klinischen Studien mit Papanicolaou-Abstrichen in PreservCyt-Lösung (PreservCyt Solution liquid Pap) wird die APTIMA GC Assay-Leistung zum Nachweis von GC primär aus Populationen mit niedriger Prävalenz bezogen. Trotzdem sollten positive Ergebnisse bei Populationen mit niedriger Prävalenz vorsichtig interpretiert werden, unter der Annahme, dass die Wahrscheinlichkeit eines falsch positiven Ergebnisses höher sein kann als die eines wahren positiven Ergebnisses.

M. Die Leistung des APTIMA-Probentransferkits wurde für die Testung desselben Papanicolaou-Abstrichs in PreservCyt-Lösung (PreservCyt Solution liquid Pap) sowohl vor und nach der ThinPrep-Papanicolaou-Bearbeitung nicht beurteilt.

N. Papanicolaou-Abstriche in PreservCyt-Lösung (PreservCyt Solution liquid Pap), die mit anderen Geräten als dem ThinPrep 2000-Prozessor bearbeitet wurden, wurden zur Verwendung in APTIMA Assays nicht beurteilt.

O. Von den Patienten (selbst) durchgeführte vaginale Abstriche sind eine Diagnoseoption für Frauen, wenn anderweitig keine gynäkologische Untersuchung indiziert ist.

P. Die Anwendung von von den Patienten (selbst) durchgeführten vaginalen Abstrichen ist auf Gesundheitsversorgungseinrichtungen beschränkt, wo Unterstützung/Beratung zur Erläuterung der Verfahren und Vorsichtsmaßnahmen zur Verfügung stehen.

Q. Der APTIMA GC Assay wurde nicht zur Verwendung mit Vaginalabstrichproben, die von Patientinnen zuhause entnommen wurden, validiert.

R. Die Leistung von vaginalen Abstrichproben bei Schwangeren wurde nicht beurteilt.

S. Die Leistung von endozervikalen, vaginalen und männlichen urethralen Abstrichproben, männlichen und weiblichen Urinproben und Papanicolaou-Abstrichen in PreservCyt-Lösung (PreservCyt Solution liquid Pap) wurde bei Jugendlichen unter 16 Jahren nicht beurteilt.

T. Testen von urethralen Abstrichproben von asymptomatischen Männern wird wegen des geringen prädiktiven Wertes eines positiven Ergebnisses, wie es in der klinischen Studie beobachtet wurde, nicht empfohlen.

U. Die Leistung des TIGRIS DTS Systems wurde nicht auf Höhen über 2240 m (7355 Fuß) ermittelt. Weitere volumetrische Prüfungen und assayspezifische Untersuchungen werden vor oder im Zuge des Aufstell- und Abnahmeverfahrens in Laboren, die auf einer Höhe über N.N. von mehr als 2240 m (7355 Fuß) liegen, durchgeführt.

V. Die Leistung des PANTHER Systems wurde nicht auf Höhen über 2000 m (6561 Fuß) ermittelt.

W. Es gibt keinen Nachweis für Abbau von Nukleinsäuren in PreservCyt-Lösung. Wenn ein Papanicolaou-Abstrich in PreservCyt-Lösung (PreservCyt Solution liquid Pap) geringe Mengen an GC-Zellmaterial aufweist, kann eine ungleiche Verteilung dieses Zellmaterials auftreten. Im Vergleich zur direkten Probenentnahme mit dem APTIMA-Tupfertransportmedium ergibt auch das zusätzliche Volumen der PreservCyt-Lösung eine größere Verdünnung des Probenmaterials. Diese Faktoren können die Fähigkeit beeinträchtigen, kleine Mengen von Organismen im gesammelten Material nachzuweisen. Wenn negative Ergebnisse aus der Probe nicht dem klinischen Eindruck entsprechen, kann eine neue Probenentnahme notwendig sein.

X. Die Kunden müssen einen LIS-Transfer unabhängig validieren.

Ergebnisse von klinischen Studien

Die Leistungsmerkmale des APTIMA GC Assays wurden im Rahmen von zwei klinischen Prüfungen, die in Nordamerika durchgeführt wurden, bestimmt. Zunächst bestimmte die klinische Probenstudie die Sensitivität, Spezifität und prädiktiven Werte des APTIMA GC Assays unter Einsatz von vom Arzt entnommenen endozervikalen, vaginalen und männlichen urethralen Abstrichproben, von den Patienten (selbst) durchgeführten vaginalen Abstrichen und Urinproben von Männern und Frauen. Die erste Studie beurteilte auch die Präzision des APTIMA GC Assays, wenn er gemäß den NCCLS Guidelines durchgeführt wurde (12). Die zweite klinische Prüfung bestimmte die Sensitivität, Spezifität und prädiktiven Werte des APTIMA GC Assays unter Einsatz des PreservCyt-Transportmediums (eine Komponente des ThinPrep 2000-Systems). Papanicolaou-Abstriche in PreservCyt-Lösung (PreservCyt Solution liquid Pap) wurden auch auf die laborinterne Präzision mit dem APTIMA GC Assay beurteilt.

Sollwerte mit DTS-Systemen

Prävalenz

Die GC-Prävalenz in Patientenpopulationen hängt von Risikofaktoren wie Alter, Geschlecht, Präsenz von Symptomen, Art der Klinik und dem Testverfahren ab. Eine Zusammenfassung der Prävalenz von GC in Nordamerika, nach Probentyp gemäß Bestimmung durch den APTIMA GC Assay, ist in Tabellen 1 und 1a für zwei klinische Prüfungen präsentiert. Eine Beschreibung der Leistungsmerkmale für klinische Proben finden Sie in den Abschnitten *Klinische Probenstudie mit Endozervix-Abstrichproben, männlichen urethralen Abstrichproben, Vaginalabstrichproben und Urinproben* und *Klinische Probenstudie zu Papanicolaou-Abstrichen in PreservCyt-Lösung (PreservCyt Liquid Pap)* unter *Klinische Leistung der DTS-Systeme*.

Tabelle 1: Prävalenz von N. gonorrhoeae nach Prüfzentrum und insgesamt gemäß Bestimmung anhand der Ergebnisse mit dem APTIMA GC Assay

Prüf-zentrum	% (Anz. positiv / Anz. getestet)											
	MS		MU		FS		FU		PVS		CVS	
1	21,4	(54/252)	21,4	(54/252)	6,1	(14/229)	5,7	(13/230)	6,4	(14/219)	6,1	(14/230)
2	26,5	(93/351)	20,1	(71/354)	16,1	(32/199)	15,0	(30/200)	16,2	(32/198)	16,6	(33/199)
3	0,0	(0/4)	0,0	(0/4)	4,4	(5/114)	3,5	(4/113)	3,6	(4/111)	3,5	(4/113)
4	NA		NA		2,3	(6/266)	1,9	(5/270)	2,2	(6/267)	3,0	(8/269)
5	5,5	(11/200)	5,5	(11/200)	1,5	(3/199)	1,0	(2/199)	1,0	(2/199)	1,0	(2/199)
6	14,5	(44/304)	13,4	(41/305)	8,2	(24/294)	5,7	(17/296)	8,3	(24/290)	7,5	(22/295)
7	5,8	(12/207)	5,8	(12/207)	0,0	(0/102)	0,0	(0/102)	0,0	(0/102)	0,0	(0/102)
8	NA		NA		2,0	(1/49)	2,0	(1/49)	2,1	(1/48)	2,0	(1/51)
Alle	16,2	(214/1318)	14,3	(189/1322)	5,9	(85/1452)	4,9	(72/1459)	5,8	(83/1434)	5,8	(84/1458)

MS = Male Urethral Swab (männl. urethrale Abstrichprobe); **MU** = Male urine (männlicher Urin); **FS** = Female Endocervical Swab (weiblicher Endozervixabstrich); **FU** = Female Urine (weiblicher Urin); **PVS** = Patient-Collected Vaginal Swab (von der Patientin selbst durchgeführter Vaginalabstrich); **CVS** = Clinician-Collected Vaginal Swab (vom Arzt entnommener Vaginalabstrich).

Tabelle 1a: Prävalenz von N. gonorrhoeae nach Prüfzentrum und insgesamt gemäß Bestimmung anhand der Ergebnisse mit dem APTIMA GC Assay bei Verwendung von Papanicolaou-Abstrichen in PreservCyt-Lösung (PreservCyt Liquid Pap)

Prüf-zentrum	% (Anz. positiv / Anz. getestet)	
1	5,0	(5/100)
2	0,8	(1/124)
3	0,8	(4/475)
4	1,4	(4/287)
5	0,0	(0/297)
6	0,5	(2/364)
Alle	1,0	(16/1647)

Positive und negative Vorhersagewerte für hypothetische Prävalenzraten in Nordamerika

Die geschätzten positiven und negativen prädiktiven Werte (PPV und NPV) für verschiedene hypothetische Prävalenzraten unter Einsatz des APTIMA GC Assays sind in Tabelle 2 gezeigt. Diese Berechnungen basieren auf hypothetischen Prävalenzraten und der Gesamtsensitivität und -spezifität, die vom Patienteninfektionsstatus geschätzt wurden. Die Gesamtsensitivität und -spezifität für GC betrug jeweils 97,6% und 99,3% (Tabelle 2). Der tatsächliche positive prädiktive Wert (PPV) und negative prädiktive Wert (NPV) für vom Arzt entnommene endozervikale, vaginale und männliche urethrale Abstrichproben, von den Patienten (selbst) durchgeführte vaginale Abstriche und Urinproben vom Mann und von der Frau sind in Tabelle 6 für jedes Prüfzentrum und insgesamt aufgezeigt. Der tatsächliche positive prädiktive Wert (PPV) und negative prädiktive Wert (NPV) für Papanicolaou-Abstriche in PreservCyt-Lösung (PreservCyt liquid Pap) sind in Tabelle 6a dargestellt.

Tabelle 2: Positive und negative Vorhersagewerte für hypothetische Prävalenzraten in Nordamerika

Hypothetische Prävalenzrate (%)	Sensitivität (%)	Spezifität (%)	Pos. präd. Wert (PPV) (%)	Neg. präd. Wert (NPV) (%)
1	97,6	99,3	58,7	100,0
2	97,6	99,3	74,1	100,0
5	97,6	99,3	88,1	99,9
10	97,6	99,3	94,0	99,7
15	97,6	99,3	96,1	99,6
20	97,6	99,3	97,2	99,4
25	97,6	99,3	97,9	99,2
30	97,6	99,3	98,4	99,0

RLU-Verteilung für APTIMA GC Assay

Abbildung 4 zeigt die RLU-Verteilung für den APTIMA GC Assay für die folgenden Probentypen, die in der klinischen Studie getestet wurden. Bei symptomatischen Probanden waren dies vom Arzt entnommene endozervikale, vaginale und männliche urethrale Abstrichproben sowie vom Patienten durchgeführte weibliche und männliche Urinproben und bei asymptomatischen Probanden vom Arzt entnommene endozervikale und vaginale Abstrichproben sowie vom Patienten bzw. der Patientin durchgeführte vaginale Abstrichproben, weibliche und männliche Urinproben. Tabelle 3 fasst die RLU-Verteilung für die gesamten positiven und gesamten negativen Ergebnisse sowie die falsch positiven und falsch negativen Ergebnisse für jeden Probentyp relativ zum Patienteninfektionsstatus zusammen. Bei bestimmten Probentypen ist mit zunehmenden RLU-Werten ein Trend zu einem steigenden Anteil an wahren positiven Testergebnissen zu beobachten.

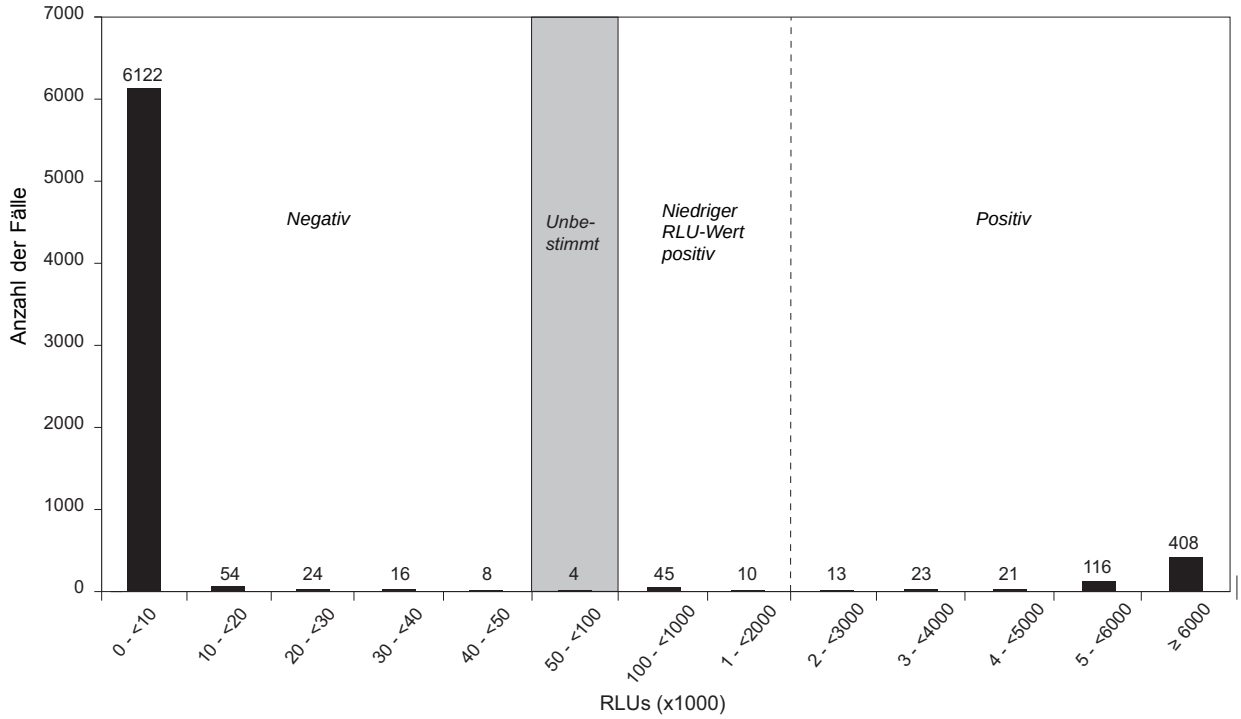

Abb. 4. Häufigkeit der RLU-Verteilung für den APTIMA GC Assay

Tabelle 3: RLU-Verteilung für den APTIMA GC Assay

	RLUs (x 1000)												
	0 - <10	**10 - <20**	**20 - <30**	**30 - <40**	**40 - <50**	**50 - <100**	**100 - <1000**	**1000 - <2000**	**2000 - <3000**	**3000 - <4000**	**4000 - <5000**	**5000 - <6000**	**≥6000**
Positive insgesamt						**-**	**45**	**10**	**13**	**23**	**21**	**116**	**408**
Falsch Positive insgesamt						**-**	**35**	**6**	**2**	**4**	**0**	**3**	**0**
CVS						1	5	3	0	1	0	2	0
PVS						0	2	0	0	1	0	1	0
FS						2	12	1	0	0	0	0	0
MS						1	9	0	1	0	0	0	0
FU						0	2	0	0	1	0	0	0
MU						0	5	2	1	1	0	0	0
Negative insgesamt	**6122**	**54**	**24**	**16**	**8**	**-**							
Falsch Negative insgesamt	**7**	**2**	**1**	**2**	**1**	**-**							
CVS	2	0	0	0	0	-							
PVS	0	0	0	0	0	-							
FS	0	0	0	1	1	-							
MS	0	1	0	0	0	-							
FU	3	1	1	1	0	-							
MU	2	0	0	0	0	-							

CVS = Clinician-Collected Vaginal Swab (vom Arzt entnommene Vaginalabstrichprobe); **PVS** = von der Patientin (selbst) durchgeführter Vaginalabstrich, nur bei asymptomatischen Probandinnen; **FS** = Female Endocervical Swab (weiblicher Endozervixabstrich); **MS** = männlicher urethraler Abstrich, nur bei symptomatischen Probanden; **FU** = Female Urine (weiblicher Urin); **MU** = männlicher Urin.

Die schattierte Spalte gibt einen unbestimmten Bereich an.

Klinische Leistung der DTS-Systeme

Siehe *Klinische Probenübereinstimmung mit dem TIGRIS DTS System* im Anschluss an den Abschnitt *Analytische Leistung der DTS-Systeme* für die für das TIGRIS DTS System spezifische klinische Leistung.

Klinische Probenstudie mit Endozervix-Abstrichproben, männlichen urethralen Abstrichproben, Vaginalabstrichproben und Urinproben

Vom Arzt entnommene endozervikale, vaginale und männliche urethrale Abstrichproben, von den Patienten (selbst) durchgeführte vaginale Abstriche und Urinproben vom Mann und der Frau wurden von 2787 symptomatischen und asymptomatischen männlichen und weiblichen Probanden entnommen, die an acht geographisch verschiedenen Prüfzentren in Nordamerika an Kliniken für Gynäkologie/Geburtshilfe, sexuell übertragbare Krankheiten (STD), Teenager und Familienplanung teilnahmen. Die Probanden wurden als symptomatisch klassifiziert, wenn sie Symptome wie Ausfluss, Dysurie und Unterleibsschmerzen berichteten. Die Probanden wurden als asymptomatisch klassifiziert, wenn sie keine Symptome berichteten. Von den 1392 asymptomatischen Probanden, die an der Studie teilnahmen, waren 2 im Alter von unter 16 Jahren, 237 waren im Altersbereich von 16 bis 20, 423 waren im Altersbereich von 21 bis 25 und 730 waren im Alter von über 25 Jahren. Von den 1395 symptomatischen Probanden, die an der Studie teilnahmen, waren 211 im Altersbereich von 16 bis 20, 494 waren im Altersbereich von 21 bis 25 und 690 waren im Alter von über 25 Jahren.

Drei Proben wurden von jedem der 1322 qualifizierten männlichen Probanden gesammelt. Fünf Proben wurden von jeder der 1465 qualifizierten Probandinnen gesammelt. Bei den männlichen Probanden wurden zwei randomisierte urethrale Abstrichproben, gefolgt von einer Urinprobe, gesammelt. Bei den Probandinnen wurde eine Urinprobe, gefolgt von einem vom Patienten (selbst) durchgeführten vaginalen Abstrich, eine vom Arzt entnommene Vaginalabstrichprobe und zwei randomisierte Endozervix-Abstrichproben entnommen. Die GC-Ergebnisse des APTIMA GC Assays und des APTIMA COMBO 2-Assay wurden von den beiden Vaginalabstrichproben, einer endozervikalen Abstrichprobe, einer männlichen urethralen Abstrichprobe und einem männlichen und weiblichen Urinaliquot erzeugt. Die restlichen endozervikalen Abstrichproben, männlichen urethralen Abstrichproben und männlichen und weiblichen Urinaliquote wurden mit einem anderen im Handel erhältlichen NAAT getestet. Endozervikale und männliche urethrale Abstrichproben und männliche und weibliche Urinproben, die im APTIMA COMBO 2-Assay und dem anderen im Handel erhältlichen NAAT getestet wurden, wurden als Referenz-NAATs verwendet, um den Infektionsstatus für jeden Probanden zu ermitteln. Die Proben wurden entweder am Prüfzentrum des jeweiligen Probanden oder an einem externen Testzentrum getestet.

Alle Leistungsberechnungen beruhten auf der Gesamtanzahl der APTIMA GC Assay-Ergebnisse für vom Arzt entnommene endozervikale, vaginale und männliche urethrale Abstrichproben und männliche und weibliche Urinproben, im Vergleich zu einem Algorithmus zur Bestimmung des Patienteninfektionsstatus für jedes Geschlecht. Im Algorithmus wurde die Kennzeichnung eines Probanden als mit GC infiziert oder nicht infiziert auf Ergebnissen für Abstrichproben und Urinproben des im Handel erhältlichen APTIMA COMBO 2-Tests und dem anderen im Handel erhältlichen NAAT basiert. Die Probanden wurden als mit GC infiziert angesehen, wenn zwei der vier Abstrichproben und Urinproben im APTIMA COMBO 2-Assay und dem anderen Referenz-NAAT ein positives Ergebnis aufwiesen (positives Testergebnis für eine Probe in jedem NAAT). Die Probanden wurden als nicht infiziert angesehen, wenn weniger als zwei Referenz-NAAT-Ergebnisse positiv waren. Es wurde keine Kultur als Referenztest verwendet.

Insgesamt 7653 Ergebnisse des APTIMA GC Assays wurden zur Berechnung der Sensitvität und Spezifität herangezogen. Die Sensitivität und Spezifität für GC nach Geschlecht, Probentyp und Symptomstatus sind jeweils in Tabelle 4 gezeigt. Tabelle 6 zeigt die Sensitivität, Spezifität und prädiktiven Werte des APTIMA GC Assays im Vergleich zum Patienteninfektionsstatus für jedes Prüfzentrum und insgesamt auf. Die Tabellen 7a - 7e fassen die Anzahl der Ergebnisse von symptomatischen und asymptomatischen Probanden, die anhand des Patienteninfektionsstatus-Algorithmus als infiziert oder nicht infiziert mit GC gekennzeichnet wurden, zusammen.

Von den 2787 teilnehmenden Probanden hatten 15 einen unbekannten GC-Patienteninfektionsstatus. Die Probanden wurden mit einem unbekannten Patienteninfektionsstatus belegt, wenn es keine Ergebnisse gab, die eine endgültige Entscheidung über den Infektionsstatus erlaubt hätten. Die Ergebnisse dieser Probanden wurden in den Leistungsberechnungen nicht berücksichtigt. Unter den 7704 Ergebnissen des APTIMA GC Assays waren 22 Proben (0,29%), die zuerst ungültige oder unbestimmte Testergebnisse erzeugten. Nach dem Wiederholungstest dieser Proben waren noch 4 unbestimmt und wurden aus den Analysen ausgeschlossen. Die restlichen 18 Proben produzierten nach dem Wiederholungstest gültige Ergebnisse und wurden in den Berechnungen zur klinischen Leistung berücksichtigt.

Tabelle 4: Sensitivität und Spezifität des APTIMA GC Assays relativ zum Patienteninfektionsstatus nach Symptomstatus und insgesamt für männliche urethrale Abstrichproben, männliche Urinproben, weibliche Endozervix-Abstrichproben, weibliche Urinproben, von der asymptomatischen Patientin (selbst) durchgeführte vaginale Abstriche und vom Arzt entnommene Vaginalabstrichproben

Probe		Symptom-status	N	TP	FP	TN	FN	Sensitivität (95% V.I.)		Spezifität (95% V.I.)	
Männlich	Abstrich	Symptomatisch	575	171	10[a]	393	1	99,4	(96,8 - 100)	97,5	(95,5 - 98,8)
	Urin	Symptomatisch	576	171	4[b]	400	1	99,4	(96,8 - 100)	99,0	(97,5 - 99,7)
		Asymptomatisch	745	9	5[c]	730	1	90,0	(55,5 - 99,7)	99,3	(98,4 - 99,8)
		Alle	1321	180	9[d]	1130	2	98,9	(96,1 - 99,9)	99,2	(98,5 - 99,6)
Weiblich	Abstrich	Symptomatisch	805	52	8[e]	744	1	98,1	(89,9 - 100)	98,9	(97,9 - 99,5)
		Asymptomatisch	635	20	5[f]	609	1	95,2	(76,2 - 99,9)	99,2	(98,1 - 99,7)
		Alle	1440	72	13[g]	1353	2	97,3	(90,6 - 99,7)	99,0	(98,4 - 99,5)
	Urin	Symptomatisch	810	48	2[h]	755	5	90,6	(79,3 - 96,9)	99,7	(99,0 - 100)
		Asymptomatisch	639	21	1[i]	616	1	95,5	(77,2 - 99,9)	99,8	(99,1 - 100)
		Alle	1449	69	3[j]	1371	6	92,0	(83,4 - 97,0)	99,8	(99,4 - 100)
Vom Patienten (selbst) durchgeführter	Vaginaler Abstrich	Asymptomatisch	629	21	4[k]	604	0	100	(83,9 - 100)	99,3	(98,3 - 99,8)
Vom Arzt entnommener	Vaginaler Abstrich	Symptomatisch	809	52	7[m]	749	1	98,1	(89,9 - 100)	99,1	(98,1 - 99,6)
		Asymptomatisch	637	21	4[n]	611	1	95,5	(77,2 - 99,9)	99,3	(98,3 - 99,8)
		Alle	1446	73	11[o]	1360	2	97,3	(90,7 - 99,7)	99,2	(98,6 - 99,6)

TP = True Positive (echt positiv); **FP** = False Positive (falsch positiv); **TN** = True Negative (echt negativ); **FN** = False Negative (falsch negativ).

APTIMA COMBO 2 Assay GC-Ergebnisse: Anz. positive Ergebnisse / Anz. getestete Proben a: 2/10 b: 1/4 c: 1/5 d: 2/9 e: 5/8 f: 2/5 g: 7/13 h: 1/2 i: 1/1 j: 2/3 k: 3/4 l: 8/11 m: 6/7 n: 3/4 o: 9/11.

Klinische Probenstudie zu Papanicolaou-Abstrichen in PreservCyt-Lösung (PreservCyt Liquid Pap)

Eine prospektive multizentrische klinische Studie wurde durchgeführt, um die Verwendung des PreservCyt-Transportmediums (eine Komponente des ThinPrep 2000-System) als alternatives Medium für gynäkologische Proben zum Nachweis von *N. gonorrhoeae* mit dem APTIMA GC Assay zu beurteilen. 1647 symptomatische und asymptomatische Probanden, die zu einer Klinik für Gynäkologie/Geburtshilfe, Familienplanung, Öffentliche Gesundheitspflege, Frauenklinik und Klinik für sexuell übertragbare Krankheiten (STD) kamen, wurden in der klinischen Studie beurteilt. Von diesen 1647 Probanden waren 1288 asymptomatisch und 359 waren symptomatisch (Tabelle 7e). Die aufgenommenen Probanden kamen aus Prüfzentren mit einer GC-Prävalenz im Bereich von 0,0% bis 5,0% (Tabelle 6a).

Von allen geeigneten Probandinnen wurden zwei Proben genommen: ein Papanicolaou-Abstrich in PreservCyt-Lösung (PreservCyt liquid Pap) und ein Endozervixabstrich. Die Papanicolaou-Abstriche in PreservCyt-Lösung (PreservCyt liquid Pap) wurden mit dem Spatel/der Cytobrush oder einem besenartigen Zervixprobenentnahmegerät entnommen. Die Verteilung der Zervixprobenentnahmegeräte ist in Tabelle 5 nach Probenentnahmeort und insgesamt zusammengefasst.

Die Papanicolaou-Abstriche in PreservCyt-Lösung (PreservCyt liquid Pap) wurden gemäß der *Bedienungsanleitung des ThinPrep 2000-Prozessors (ThinPrep 2000 Processor Operator's Manual)* und der Packungsbeilage des APTIMA-Probentransferkits durchgeführt. Nach der Bearbeitung der Papanicolaou-Abstriche in PreservCyt-Lösung (PreservCyt liquid Pap) mit dem ThinPrep 2000-Prozessor wurde die Probe in das APTIMA-Probentransferkit zum Test mit dem APTIMA GC Assay transferiert.

Die Sensitivität und Spezifität des APTIMA GC Assays mit Papanicolaou-Abstrichen in PreservCyt-Lösung (PreservCyt liquid Pap) wurden berechnet, indem die Ergebnisse mit dem Patienteninfektionsstatus verglichen wurden. Der Algorithmus umfasst die Ergebnisse des APTIMA COMBO 2-Tests und APTIMA GC Assays für endozervikale Abstrichproben. Beide Referenz-NAATs mussten zum Nachweis des Patientenstatus „infiziert" positiv sein. Mindestens ein Referenz-NAAT musste negativ sein, um den Patientenstatus „nicht infiziert" nachzuweisen. Das eine unbestimmte Ergebnis, das von einem Referenz-NAAT erhalten wurde, wurde für die Zwecke der Leistungsberechnung als widersprüchlich zum Prüfungstest angesehen und der Patienteninfektionsstatus wurde daher als nicht infiziert (n=1) klassifiziert. Tabelle 7e bietet eine Übersicht über die Häufigkeit der Testergebnisse für die Endozervix-Abstrichproben, die mit dem APTIMA COMBO 2-Assay und APTIMA GC Assay getestet wurden.

Tabelle 5a zeigt die Sensitivitäten und Spezifitäten des APTIMA GC Assays nach Symptomstatus und insgesamt. Die Gesamtsensitivität betrug 92,3% (12/13). Bei symptomatischen und asymptomatischen Probanden lagen die Sensitivitäten jeweils bei 100% (7/7) und 83,3% (5/6). Die Gesamtspezifität betrug 99,8% (1630/1634). Bei symptomatischen und asymptomatischen Probanden lagen die Spezifitäten jeweils bei 99,4% (350/352) und 99,8% (1280/1282).

Tabelle 6a zeigt die Sensitivitäten und Spezifitäten des APTIMA GC Assays nach Probenentnahmeort und insgesamt. Die Sensitivität lag im Bereich von 80,0% bis 100%. Die Spezifitäten lagen im Bereich von 99,0% bis 100%.

Tabelle 5: Verteilung des Zervixprobenentnahmegeräts, das für Papanicolaou-Abstriche in PreservCyt-Lösung (PreservCyt Solution Liquid Pap) verwendet wurde

Verwendetes Zervixprobenentnahmegerät	Klinischer Entnahmeort						Gesamt
	1	2	3	4	5	6	
Spatel/Cytobrush	0	124	475	287	57	364	1307
Besenartiges Gerät	100	0	0	0	240	0	340

Tabelle 5a: Sensitivität und Spezifität des APTIMA GC Assays relativ zum Patienteninfektionsstatus nach Symptomstatus und insgesamt für Papanicolaou-Abstriche in PreservCyt-Lösung (PreservCyt Solution Liquid Pap)

Symptom	Ergebnis von APTIMA GC Assay für PreservCyt-Lösung	+/+	+/-	-/+	-/-	Sensitivität (%) (95% V.I.)	Spezifität (%) (95% V.I.)
Symptomatisch	Positiv	7	0	0	2	100 (7/7) (59,0 – 100)	99,4 (350/352) (98,0 – 99,9)
	Negativ	0	0	0	350		
	Gesamt	7	0	0	352		
Asymptomatisch	Positiv	5	0	1[1]	1	83,3 (5/6) (35,9 – 99,6)	99,8 (1280/1282) (99,4 –100)
	Negativ	1	0	5	1275		
	Gesamt	6	0	6	1276		
Alle	Positiv	12	0	1	3	92,3 (12/13) (64,0 – 99,8)	99,8 (1630/1634) (99,4 – 99,9)
	Negativ	1	0	5	1625		
	Gesamt	13	0	6	1628		

+/+ = Positives Endozervixabstrich-Ergebnis im APTIMA COMBO 2 Assay/Positives Endozervixabstrich-Ergebnis im APTIMA GC Assay.

+/- = Positives Endozervixabstrich-Ergebnis im APTIMA COMBO 2 Assay/Negatives Endozervixabstrich-Ergebnis im APTIMA GC Assay.

-/+ = Negatives Endozervixabstrich-Ergebnis im APTIMA COMBO 2 Assay/Positives Endozervixabstrich-Ergebnis im APTIMA GC Assay.

-/- = Negatives Endozervixabstrich-Ergebnis im APTIMA COMBO 2 Assay/Negatives Endozervixabstrich-Ergebnis im APTIMA GC Assay.

[1]Eine Probe zeigte ein abweichendes Ergebnis: unbestimmtes Ergebnis für eine endozervikale Abstrichprobe mit dem APTIMA COMBO 2 Assay/positives Ergebnis für eine endozervikale Abstrichprobe mit dem APTIMA GC Assay.

Tabelle 6: Sensitivität, Spezifität und prädiktive Werte des APTIMA GC Assays relativ zum Patienteninfektionsstatus nach Prüfzentrum und insgesamt für männliche urethrale Abstrichproben, männliche Urinproben, weibliche Endozervix-Abstrichproben, weibliche Urinproben, von der asymptomatischen Patientin (selbst) durchgeführte vaginale Abstriche und vom Arzt entnommene Vaginalabstrichproben

Probe		Prüf-zentrum	N	TP	FP	TN	FN	Prä. (%)	Sensitivität (95% V.I.)		Spezifität (95% V.I.)		Pos. präd. Wert (PPV) (%)	Neg. präd. Wert (NPV) (%)
Männlich	Abstrich	1	145	49	0	96	0	33,8	100	(92,7 - 100)	100	(96,2 - 100)	100	100
		2	177	66	8	102	1	37,9	98,5	(92,0 - 100)	92,7	(86,2 - 96,8)	89,2	99,0
		3	NA	NA	NA	NA	NA	NA		NA		NA	NA	NA
		4	NA	NA	NA	NA	NA	NA		NA		NA	NA	NA
		5	49	7	1	41	0	14,3	100	(59,0 - 100)	97,6	(87,4 - 99,9)	87,5	100
		6	150	37	1	112	0	24,7	100	(90,5 - 100)	99,1	(95,2 - 100)	97,4	100
		7	54	12	0	42	0	22,2	100	(73,5 - 100)	100	(91,6 - 100)	100	100
		8	NA	NA	NA	NA	NA	NA		NA		NA	NA	NA
		Alle	575	171	10	393	1	29,9	99,4	(96,8 - 100)	97,5	(95,5 - 98,8)	94,5	99,7
	Urin	1	252	53	1	198	0	21,0	100	(93,3 - 100)	99,5	(97,2 - 100)	98,1	100
		2	353	68	3	280	2	19,8	97,1	(90,1 - 99,7)	98,9	(96,9 - 99,8)	95,8	99,3
		3	4	0	0	4	0	0,0		NA	100	(39,8 - 100)	NA	100
		4	NA	NA	NA	NA	NA	NA		NA		NA	NA	NA
		5	200	8	3	189	0	4,0	100	(63,1 - 100)	98,4	(95,5 - 99,7)	72,7	100
		6	305	39	2	264	0	12,8	100	(91,0 - 100)	99,2	(97,3 - 99,9)	95,1	100
		7	207	12	0	195	0	5,8	100	(73,5 - 100)	100	(98,1 - 100)	100	100
		8	NA	NA	NA	NA	NA	NA		NA		NA	NA	NA
		Alle	1321	180	9	1130	2	13,8	98,9	(96,1 - 99,9)	99,2	(98,5 - 99,6)	95,2	99,8
Weiblich	Abstrich	1	226	12	2	212	0	5,3	100	(73,5 - 100)	99,1	(96,7 - 99,9)	85,7	100
		2	197	29	3	164	1	15,2	96,7	(82,8 - 99,9)	98,2	(94,8 - 99,6)	90,6	99,4
		3	114	4	1	109	0	3,5	100	(39,8 - 100)	99,1	(95,0 - 100)	80,0	100
		4	260	5	1	254	0	1,9	100	(47,8 - 100)	99,6	(97,8 - 100)	83,3	100
		5	199	2	1	196	0	1,0	100	(15,8 - 100)	99,5	(97,2 - 100)	66,7	100
		6	294	19	5	269	1	6,8	95,0	(75,1 - 99,9)	98,2	(95,8 - 99,4)	79,2	99,6
		7	102	0	0	102	0	0,0		NA	100	(96,4 - 100)	NA	100
		8	48	1	0	47	0	2,1	100	(2,5 - 100)	100	(92,5 - 100)	100	100
		Alle	1440	72	13	1353	2	5,1	97,3	(90,6 - 99,7)	99,0	(98,4 - 99,5)	84,7	99,9
	Urin	1	227	11	2	213	1	5,3	91,7	(61,5 - 99,8)	99,1	(96,7 - 99,9)	84,6	99,5
		2	198	30	0	167	1	15,7	96,8	(83,3 - 99,9)	100	(97,8 - 100)	100	99,4
		3	113	4	0	109	0	3,5	100	(39,8 - 100)	100	(96,7 - 100)	100	100
		4	265	5	0	260	0	1,9	100	(47,8 - 100)	100	(98,6 - 100)	100	100
		5	199	2	0	197	0	1,0	100	(15,8 - 100)	100	(98,1 - 100)	100	100
		6	296	16	1	275	4	6,8	80,0	(56,3 - 94,3)	99,6	(98,0 - 100)	94,1	98,6
		7	102	0	0	102	0	0,0		NA	100	(96,4 - 100)	NA	100
		8	49	1	0	48	0	2,0	100	(2,5 - 100)	100	(92,6 - 100)	100	100
		Alle	1449	69	3	1371	6	5,2	92,0	(83,4 - 97,0)	99,8	(99,4 - 100)	95,8	99,6

Tabelle 6: Sensitivität, Spezifität und prädiktive Werte des APTIMA GC Assays relativ zum Patienteninfektionsstatus nach Prüfzentrum und insgesamt für männliche urethrale Abstrichproben, männliche Urinproben, weibliche Endozervix-Abstrichproben, weibliche Urinproben, von der asymptomatischen Patientin (selbst) durchgeführte vaginale Abstriche und vom Arzt entnommene Vaginalabstrichproben (Fortsetzung)

Probe		Prüf-zentrum	N	TP	FP	TN	FN	Prä. (%)	Sensitivität (95% V.I.)		Spezifität (95% V.I.)		Pos. präd. Wert (PPV) (%)	Neg. präd. Wert (NPV) (%)
Vom Patienten (selbst) durchgeführter	**Vaginaler Abstrich (asymptomatisch)**	**1**	70	5	1	64	0	7,1	100	(47,8 - 100)	98,5	(91,7 - 100)	83,3	100
		2	46	7	1	38	0	15,2	100	(59,0 - 100)	97,4	(86,5 - 99,9)	87,5	100
		3	45	2	0	43	0	4,4	100	(15,8 - 100)	100	(91,8 - 100)	100	100
		4	152	1	0	151	0	0,7	100	(2,5 - 100)	100	(97,6 - 100)	100	100
		5	130	1	0	129	0	0,8	100	(2,5 - 100)	100	(97,2 - 100)	100	100
		6	75	5	2	68	0	6,7	100	(47,8 - 100)	97,1	(90,1 - 99,7)	71,4	100
		7	68	0	0	68	0	0,0		NA	100	(94,7 - 100)	NA	100
		8	43	0	0	43	0	0,0		NA	100	(91,8 - 100)	NA	100
		Alle	629	21	4	604	0	3,3	100	(83,9 - 100)	99,3	(98,3 - 99,8)	84,0	100
Vom Arzt entnommener	**Vaginaler Abstrich**	**1**	227	12	2	213	0	5,3	100	(73,5 - 100)	99,1	(96,7 - 99,9)	85,7	100
		2	197	30	3	163	1	15,7	96,8	(83,3 - 99,9)	98,2	(94,8 - 99,6)	90,9	99,4
		3	113	4	0	109	0	3,5	100	(39,8 - 100)	100	(96,7 - 100)	100	100
		4	263	5	3	255	0	1,9	100	(47,8 - 100)	98,8	(96,6 - 99,8)	62,5	100
		5	199	2	0	197	0	1,0	100	(15,8 - 100)	100	(98,1 - 100)	100	100
		6	295	19	3	272	1	6,8	95,0	(75,1 - 99,9)	98,9	(96,8 - 99,8)	86,4	99,6
		7	102	0	0	102	0	0,0		NA	100	(96,4 - 100)	NA	100
		8	50	1	0	49	0	2,0	100	(2,5 - 100)	100	(92,7 - 100)	100	100
		Alle	1446	73	11	1360	2	5,2	97,3	(90,7 - 99,7)	99,2	(98,6 - 99,6)	86,9	99,9

TP = True Positive (echt positiv); **FP** = False Positive (falsch positiv); **TN** = True Negative (echt negativ); **FN** = False Negative (falsch negativ).

Tabelle 6a: Sensitivität, Spezifität und prädiktive Werte des APTIMA GC Assays relativ zum Patienteninfektionsstatus nach Prüfzentrum und insgesamt für Papanicolaou-Abstriche in PreservCyt-Lösung (PreservCyt Solution Liquid Pap)

Prüf-zentrum	Ergebnis von APTIMA GC-Assay für PreservCyt-Lösung	+/+	+/-	-/+	-/-	Prä. (%)	Sensitivität (%) (95% V.I.)	Spezifität (%) (95% V.I.)	Pos. präd. Wert (PPV) (%)	Neg. präd. Wert (NPV) (%)
1	Positiv	5	0	0	0	5,0	100 (5/5) (47,8 – 100)	100 (95/95) (96,2 – 100)	100	100
	Negativ	0	0	0	95					
	Gesamt	5	0	0	95					
2	Positiv	1	0	0	0	0,8	100 (1/1) (2,5 – 100)	100 (123/123) (97,0 – 100)	100	100
	Negativ	0	0	0	123					
	Gesamt	1	0	0	123					
3	Positiv	4	0	0	0	1,1	80,0 (4/5) (28,4 – 99,5)	100 (470/470) (99,2 – 100)	100	99,8
	Negativ	1	0	0	470					
	Gesamt	5	0	0	470					
4	Positiv	1	0	0	3	0,3	100 (1/1) (2,5 – 100)	99,0 (283/286) (97,0 – 99,8)	25,0	100
	Negativ	0	0	3	280					
	Gesamt	1	0	3	283					
5	Positiv	0	0	0	0	0,0	NA	100 (297/297) (98,8 – 100)	NA	100
	Negativ	0	0	0	297					
	Gesamt	0	0	0	297					
6	Positiv	1	0	1[1]	0	0,3	100 (1/1) (2,5 – 100)	99,7 (362/363) (98,5 – 100)	50,0	100
	Negativ	0	0	2	360					
	Gesamt	1	0	3	360					
Alle	Positiv	12	0	1	3	0,8	92,3 (12/13) (64,0 – 99,8)	99,8 (1630/1634) (99,4 – 99,9)	75,0	99,9
	Negativ	1	0	5	1625					
	Gesamt	13	0	6	1628					

NA = nicht zutreffend.

+/+ = Positives Endozervixabstrich-Ergebnis im APTIMA COMBO 2 Assay/Positives Endozervixabstrich-Ergebnis im APTIMA GC Assay.

+/- = Positives Endozervixabstrich-Ergebnis im APTIMA COMBO 2 Assay/Negatives Endozervixabstrich-Ergebnis im APTIMA GC Assay.

-/+ = Negatives Endozervixabstrich-Ergebnis im APTIMA COMBO 2 Assay/Positives Endozervixabstrich-Ergebnis im APTIMA GC Assay.

-/- = Negatives Endozervixabstrich-Ergebnis im APTIMA COMBO 2 Assay/Negatives Endozervixabstrich-Ergebnis im APTIMA GC Assay.

[1]Eine Probe zeigte ein abweichendes Ergebnis: unbestimmtes Ergebnis für eine endozervikale Abstrichprobe mit dem APTIMA COMBO 2 Assay/positives Ergebnis für eine endozervikale Abstrichprobe mit dem APTIMA GC Assay.

Tabelle 7a: Ergebnisse für männliche urethrale Abstriche von symptomatischen Probanden, die mit N. gonorrhoeae infiziert oder nicht infiziert waren, gemäß Patienteninfektionsstatus

Patienten-infektionsstatus	NAAT 1 (APTIMA COMBO 2-Assay)		NAAT 2		APTIMA GC Assay	Gesamt
	MS	MU	MS	MU	MS	
Infiziert	+	+	+	+	+	164
Infiziert	+	+	+	+	-	1
Infiziert	+	+	+	-	+	3
Infiziert	+	+	=	+	+	1
Infiziert	+	-	+	+	+	2
Infiziert	+	-	+	-	+	1
Nicht infiziert	+	-	-	-	+	2
Nicht infiziert	+	-	-	-	-	1
Nicht infiziert	-	+	-	-	+	1
Nicht infiziert	-	-	+	-	-	1
Nicht infiziert	-	-	-	+	-	2
Nicht infiziert	-	-	-	-	+	3
Nicht infiziert	-	-	-	-	+	2
Nicht infiziert	-	-	-	-	-	386
Nicht infiziert	-	-	-	-	=	1
Nicht infiziert	-	-	-	NA	-	1
Nicht infiziert	-	-	-	=	-	1
Nicht infiziert	-	-	=	-	-	1
Nicht infiziert	=	-	-	-	+	2
Gesamt						**576**

NA = keine Probe genommen oder für den Test verfügbar. Das Gleichheitszeichen (**=**) steht für „unbestimmt“ im Wiederholungstest. **MS** = Male Urethral Swab (männl. urethrale Abstrichprobe); **MU** = männlicher Urin.

Tabelle 7b: Ergebnisse für männliche Urinproben von Probanden, die mit N. gonorrhoeae infiziert oder nicht infiziert waren, gemäß Patienteninfektionsstatus

Patienten-infektionsstatus	NAAT 1 (APTIMA COMBO 2-Assay)		NAAT 2		APTIMA GC-Assay	Symptom-status		Gesamt
	MS	MU	MS	MU	MU	Sympt.	Asympt.	
Infiziert	+	+	+	+	+	164	8	172
Infiziert	+	+	+	+	+	1	0	1
Infiziert	+	+	+	-	+	3	1	4
Infiziert	+	+	=	+	+	1	0	1
Infiziert	+	-	+	+	+	2	0	2
Infiziert	+	-	+	-	-	1	1	2
Nicht infiziert	+	+	-	-	+	0	1	1
Nicht infiziert	+	-	-	-	-	2	13	15
Nicht infiziert	+	-	-	-	-	1	0	1
Nicht infiziert	-	+	-	-	+	1	0	1
Nicht infiziert	-	+	-	-	-	0	1	1
Nicht infiziert	-	-	+	-	-	1	1	2
Nicht infiziert	-	-	-	+	-	2	2	4
Nicht infiziert	-	-	-	-	+	3	1	4
Nicht infiziert	-	-	-	-	-	2	1	3
Nicht infiziert	-	-	-	-	+	0	3	3
Nicht infiziert	-	-	-	-	-	386	691	1077
Nicht infiziert	-	-	-	-	-	1	2	3
Nicht infiziert	-	-	-	NA	-	1	4	5
Nicht infiziert	-	-	-	=	-	1	4	5
Nicht infiziert	-	-	=	-	-	1	1	2
Nicht infiziert	-	=	-	-	-	0	1	1
Nicht infiziert	NA	-	-	-	-	0	1	1
Nicht infiziert	=	-	-	-	-	2	6	8
Nicht infiziert	=	-	-	-	-	0	2	2
Gesamt						**576**	**745**	**1321**

Sympt. = symptomatisch; **Asympt**. = asymptomatisch. **NA** = Probe nicht entnommen oder nicht zum Test verfügbar. Das Gleichheitszeichen (**=**) steht für „unbestimmt“ im Wiederholungstest. **MS** = Male Urethral Swab (männl. urethrale Abstrichprobe); **MU** = männlicher Urin.

Tabelle 7c: Endozervikale Abstrichproben- und Urinergebnisse von Probandinnen, die mit N. gonorrhoeae infiziert oder nicht infiziert waren, gemäß Patienteninfektionsstatus

Patienten-infektionsstatus	NAAT 1 (APTIMA COMBO 2-Assay)		NAAT 2		APTIMA GC-Assay		Symptom-status		Gesamt
	FS	FU	FS	FU	FS	FU	Sympt.	Asympt.	
Infiziert	+	+	+	+	+	+	43	16	59
Infiziert	+	+	+	+	+	-	2	0	2
Infiziert	+	+	+	-	+	+	2	1	3
Infiziert	+	+	+	-	+	-	0	1	1
Infiziert	+	+	+	NA	+	+	1	0	1
Infiziert	+	+	-	+	+	+	1	1	2
Infiziert	+	+	-	-	+	+	1	1	2
Infiziert	+	-	+	+	+	-	1	0	1
Infiziert	+	-	+	-	+	+	0	1	1
Infiziert	+	-	+	-	+	-	2	0	2
Infiziert	-	+	+	+	-	+	1	0	1
Infiziert	-	+	-	+	-	+	0	1	1
Infiziert	-	+	-	+	=	+	0	1	1
Infiziert	-	-	+	+	-	-	1	0	1
Nicht infiziert	+	-	-	-	+	-	4	1	5
Nicht infiziert	+	-	-	-	-	-	1	0	1
Nicht infiziert	-	+	-	-	-	-	1	0	1
Nicht infiziert	-	-	+	-	+	-	1	0	1
Nicht infiziert	-	-	+	-	-	-	5	2	7
Nicht infiziert	-	-	-	+	-	-	2	2	4
Nicht infiziert	-	-	-	-	+	-	1	2	3
Nicht infiziert	-	-	-	-	-	+	1	0	1
Nicht infiziert	-	-	-	-	-	-	718	589	1307
Nicht infiziert	-	-	-	-	=	-	1	0	1
Nicht infiziert	-	-	-	NA	-	-	2	3	5
Nicht infiziert	-	-	-	=	-	-	11	11	22
Nicht infiziert	-	-	=	-	-	-	1	1	2
Nicht infiziert	-	NA	-	-	-	NA	1	1	2
Nicht infiziert	NA	-	-	-	NA	-	5	4	9
Nicht infiziert	=	-	-	-	+	-	1	1	2
Gesamt							**811**	**640**	**1451**

Sympt. = symptomatisch; **Asympt**. = asymptomatisch. **NA** = Probe nicht entnommen oder nicht zum Test verfügbar. Das Gleichheitszeichen (**=**) steht für „unbestimmt“ im Wiederholungstest. **FS** = Female Endocervical Swab (weibl. Endozervix-Abstrichprobe); **FU** = Female Urine (weibl. Urin).

Tabelle 7d: Ergebnisse für vaginale Abstriche von Probandinnen, die mit N. gonorrhoeae infiziert oder nicht infiziert waren, gemäß Patienteninfektionsstatus

Patienten-infektionsstatus	NAAT 1 (APTIMA COMBO 2-Assay)		NAAT 2		APTIMA GC-Assay		Symptom-status		Gesamt
	FS	FU	FS	FU	PVS	CVS	Sympt.	Asympt.	
Infiziert	+	+	+	+	+	+	43	15	58
Infiziert	+	+	+	+	-	+	1	0	1
Infiziert	+	+	+	+	-	-	1	0	1
Infiziert	+	+	+	+	NA	+	0	1	1
Infiziert	+	+	+	-	+	+	2	2	4
Infiziert	+	+	+	NA	+	+	1	0	1
Infiziert	+	+	-	+	+	+	1	1	2
Infiziert	+	+	-	-	+	+	1	1	2
Infiziert	+	-	+	+	+	+	1	0	1
Infiziert	+	-	+	-	+	+	2	1	3
Infiziert	-	+	+	+	+	+	1	0	1
Infiziert	-	+	-	+	+	+	0	1	1
Infiziert	-	+	-	+	+	-	0	1	1
Infiziert	-	-	+	+	-	-	1	0	1
Nicht infiziert	+	-	-	-	-	-	5	1	6
Nicht infiziert	-	+	-	-	-	-	1	0	1
Nicht infiziert	-	-	+	-	+	+	1	0	1
Nicht infiziert	-	-	+	-	-	-	5	2	7
Nicht infiziert	-	-	-	+	+	+	0	1	1
Nicht infiziert	-	-	-	+	-	-	2	1	3
Nicht infiziert	-	-	-	-	+	+	2	1	3
Nicht infiziert	-	-	-	-	+	-	3	1	4
Nicht infiziert	-	-	-	-	-	+	3	1	4
Nicht infiziert	-	-	-	-	-	-	696	577	1273
Nicht infiziert	-	-	-	-	-	NA	0	1	1
Nicht infiziert	-	-	-	-	-	=	0	1	1
Nicht infiziert	-	-	-	-	NA	-	16	9	25
Nicht infiziert	-	-	-	-	NA	NA	1	0	1
Nicht infiziert	-	-	-	NA	-	-	2	2	4
Nicht infiziert	-	-	-	NA	NA	-	0	1	1
Nicht infiziert	-	-	-	=	-	-	11	10	21
Nicht infiziert	-	-	-	=	-	NA	0	1	1
Nicht infiziert	-	-	=	-	-	-	1	1	2
Nicht infiziert	-	NA	-	-	-	-	0	1	1
Nicht infiziert	-	NA	-	-	NA	NA	1	0	1
Nicht infiziert	NA	-	-	-	-	-	5	4	9
Nicht infiziert	=	-	-	-	-	-	1	1	2
Gesamt							**811**	**640**	**1451**

Sympt. = symptomatisch; **Asympt.** = asymptomatisch. **NA** = Probe nicht entnommen oder nicht zum Test verfügbar. Das Gleichheitszeichen (**=**) steht für „unbestimmt“ im Wiederholungstest. **FS** = Female Endocervical Swab (weibl. Endozervix-Abstrichprobe); **FU** = Female Urine (weibl. Urin); **PVS** = Patient-Collected Vaginal Swab (von der Patientin selbst durchgeführter Vaginalabstrich); **CVS** = Clinician-Collected Vaginal Swab (vom Arzt entnommene Vaginalabstrichprobe).

Tabelle 7e: Ergebnisse für Patienteninfektionsstatus für N. gonorrhoeae in klinischer Studie mit Papanicolaou-Abstrichen in PreservCyt-Lösung (PreservCyt Liquid Pap)

Patienteninfektionsstatus	Endozervix-Abstrichprobe		Symptom-status	
	APTIMA COMBO 2-Assay	APTIMA GC-Assay	Symptomatisch	Asymptomatisch
Infiziert	Positiv	Positiv	7	6
Nicht infiziert	Negativ	Negativ	352	1276
Nicht infiziert	Negativ	Positiv	0	5
Nicht infiziert	Unbestimmt	Positiv	0	1
Gesamt			**359**	**1288**

RLU-Verteilung von APTIMA-Kontrollen

Die Verteilung der RLUs für die APTIMA Positivkontrolle, GC / Negativkontrolle, CT und die APTIMA Positivkontrolle, CT / Negativkontrolle, GC aus allen APTIMA GC Assay-Läufen, die während der klinischen Probenstudie durchgeführt wurden, sind in Tabelle 8 präsentiert.

Tabelle 8: RLU-Verteilung der APTIMA-Kontrollen im Rahmen der klinischen Probenstudien, einschließlich Studien zu endozervikalen, vaginalen und männlichen urethralen Abstrichproben, männlichen und weiblichen Urinproben und Papanicolaou-Abstrichen in PreservCyt-Lösung (PreservCyt Liquid Pap)

Kontrolle	Statistik	RLU (x1000)	
		Klinische Studie zu Abstrichproben und Urinproben	Klinische Studie zu Papanicolaou-Abstrichen in PreservCyt-Lösung (PreservCyt Liquid Pap)
Positive Kontrolle, GC / Negative Kontrolle, CT	N	193	218
	Mittel-wert	5048	4561
	SA	1071	1295
	Maximum	6765	6791
	75th Perzentil	5763	5450
	Median	5175	4859
	25th Perzentil	4645	3804
	Minimum	229	158
Positive Kontrolle, CT / Negative Kontrolle, GC	N	193	218
	Mittel-wert	2,15	2,60
	SA	2,20	2,80
	Maximum	20	29
	75th Perzentil	2	3
	Median	2	2
	25th Perzentil	1	2
	Minimum	0	1

Präzisionsstudie

Die Präzision (d. h. Reproduzierbarkeit) des APTIMA GC Assays wurde an zwei externen Prüfzentren und bei Gen-Probe beurteilt. Die Präzision des APTIMA GC Assays wurde über drei Kitchargen des APTIMA GC Assays, drei Prüfzentren, sechs Bediener und 108 APTIMA GC Assay-Läufe beurteilt. Zwei Bediener an jedem der drei Prüfzentren führten insgesamt sechs APTIMA GC Assay-Läufe pro Kitcharge, d.h. insgesamt 36 Läufe pro Kitcharge, durch. Jeder Lauf bestand aus einem 12-Elemente-Präzisionspanel mit 0 bis 2433 fg/Test von GC-rRNA. Die Reproduzierbarkeit wurde mit einem mit rRNA gespikten Tupfertransportmedium ermittelt. Die Reproduzierbarkeit von Tests von Abstrich- und Urinproben mit Zielorganismen wurde nicht ermittelt. Tabelle 9 stellt die RLU-Präzisionsdaten nach Mittelwert, Standardabweichung, Variationskoeffizient (VK) und prozentualer Übereinstimmung mit den erwarteten Ergebnissen für die Berechnungen der Variabilität zwischen Prüfzentren, zwischen Bedienern, zwischen Chargen, zwischen Läufen sowie die laufinterne Variabilität dar.

Tabelle 9: Präzisionsdaten für APTIMA GC Assay unter Einsatz eines 12-Elemente-Präzisionspanels mit 0 bis 2433 fg/Test von GC-rRNA

Konzentration	N	RLU-Mittelwert (x1000)	% Übereinst.	Laufintern		Zwischen Prüfzentren		Zwischen Chargen		Zwischen Bedienern		Zwischen Läufen	
				SA RLU (x1000)	VK (%)	SA RLU (x1000)	VK (%)	SA RLU (x1000)	VK (%)	SA RLU (x1000)	VK (%)	SA RLU (x1000)	VK (%)
Neg (0 fg/mL)	540	11,7	99,8	233,3	NA	0	NA	0	NA	4,3	NA	0	NA
Niedrig (608-625 fg/mL)	324	5574,4	99,7	617,2	11,1	189,2	3,4	518,1	9,3	311,3	5,6	527,4	9,5
Mittel (6082 fg/mL)	108	6502,6	100	138,8	2,1	0	0,0	481,9	7,4	514,8	7,9	579,4	8,9
Hoch (12.500 fg/mL)	324	6786,0	100	270,3	4,0	0	0,0	581,3	8,6	410,7	6,1	647,1	9,5

SA = Standardabweichung; **VK (%)** = prozentualer Variationskoeffizient; **% Übereinst.** = prozentuale Übereinstimmung.
NA = nicht zutreffend für negativen Analyten.

Hinweis: Die Variabilität von einigen Faktoren kann numerisch negativ sein. Das kann auftreten, wenn die durch diese Faktoren bedingte Variabilität sehr klein ist. Wenn dies auftritt, wird die anhand von SA und % VK gemessene Variabilität auf Null gesetzt (12).

Die laborinterne Präzision für Papanicolaou-Abstriche in PreservCyt-Lösung (PreservCyt liquid Pap), die mit dem APTIMA GC Assay getestet wurden, wurde durch Spiken der PreservCyt-Fläschchen mit 20 GC CFU pro Fläschchen (0,1 CFU pro Reaktion) und 100 GC CFU pro Fläschchen (0,5 CFU pro Reaktion) bestimmt. Die Fläschchen mit 10.000 GC CFU pro Fläschchen (50 CFU pro Reaktion) und ungespikte PreservCyt-Fläschchen wurden als positive und Negativkontrollen getestet. Zehn auf jeder CFU-Stufe gespikte Fläschchen und zehn ungespikte Fläschchen wurden zwischen zwei Bedienern aufgeteilt. Die Bediener mischten die Fläschchen im Vortex-Mischer und transferierten dann 14 Aliquote (je 1,0 mL) pro Fläschchen in 14 APTIMA-Transferröhrchen, wie in der Packungsbeilage des APTIMA-Probentransferkits beschrieben. Die Bediener wurden bezüglich der Titer der Proben verblindet. Jede der resultierenden Pap-STM-Proben wurde einmal im APTIMA GC Assay getestet. Insgesamt fünf Läufe wurden über einen Zeitraum von fünf Tagen durchgeführt, um 140 Ergebnisse auf der 0,1, 0,5 und 50 CFU-Stufe zu erhalten. Es wurden 136 gültige Ergebnisse und 4 ungültige Ergebnisse für das negative Kontroll-Panel erhalten. Die ungültigen Ergebnisse waren durch Fehlplatzierung einer TTU im Leader HC+ bedingt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 10 zusammengestellt.

Tabelle 10: APTIMA GC Assay - Laborinterne Präzisionsdaten für PreservCyt unter Einsatz eines 4-Elemente-Präzisionspanels mit 0 bis 500 CFU/mL GC-Zellen

Panel-element	CFU/mL PreservCyt	CFU/rxn	N	Über-einst.	% Über-einst.	RLU-Mittel-wert (x1000)	Bediener-intern		Zwischen Tagen		Zwischen Bedienern		Gesamt	
							SA (x1000)	VK (%)	SA (x1000)	VK (%)	SA (x1000)	VK (%)	SA (x1000)	VK (%)
A	1	0.1	140	39	27,9	313,7	758,3	241,7	132,5	42,2	0,0	0,0	769,8	245,4
B	5	0.5	140	113	80,7	1211,1	1031,3	85,2	169,8	14,0	150,4	12,4	1056,0	87,2
C	500	50	140	140	100	5636,8	220,7	3,9	135,7	2,4	0,0	0,0	259,1	4,6
D	0	0	136*	136	100	1,2	0,5	NA	0	NA	0,3	NA	0,6	NA

* Vier ungültige Ergebnisse waren durch Fehlplatzierung einer TTU im Leader HC+ bedingt.

Hinweis: Die Variabilität von einigen Faktoren kann numerisch negativ sein. Das kann auftreten, wenn die durch diese Faktoren bedingte Variabilität klein ist. Wenn das auftritt, wird die Variabilität mit SA gemessen und % VK wird auf Null gesetzt (12). NA = nicht zutreffend für negative Panelproben. Bediener = Lauf. Proben mit widersprüchlichen Ergebnissen wurden in der Signalvariabilitätsanalyse berücksichtigt.

Analytische Leistung der DTS-Systeme

Siehe *Analytische Leistung des TIGRIS DTS Systems* im Anschluss an den Abschnitt *Klinische Probenübereinstimmung mit dem TIGRIS DTS System* für die für das TIGRIS DTS System spezifische analytische Leistung.

Siehe *Analytische Leistung des PANTHER Systems* für die für das PANTHER System spezifische analytische Leistung.

Analytische Sensitivität

Die analytische Sensitivität (Nachweisgrenze) für *N. gonorrhoeae* wurde durch direkten Vergleich von Verdünnungen von 51 verschiedenen klinischen Isolaten in Kultur und im APTIMA GC Assay bestimmt. Der analytische Sensitivitätsanspruch für den Test ist 50 CFU/Test (362 CFU/Abstrich, 250 CFU/mL Urin und 487,5 CFU/mL Papanicolaou-Abstriche in PreservCyt-Lösung (PreservCyt Solution liquid Pap).

Analytische Spezifität

Insgesamt 154 Kulturisolate wurden mit dem APTIMA GC Assay evaluiert. Diese Isolate umfassten 86 Organismen, die aus dem Urogenitaltrakt isoliert werden können, und 68 zusätzliche Organismen, die einen phylogenetischen Querschnitt von Organismen darstellen. Die getesteten Organismen umfassten Bakterien, Pilze, Hefe, Parasiten und Viren. Alle Organismen außer *C. psittaci, C. pneumoniae, U. urealyticum* und die Viren wurden bei 1,0 x 10^6 Zellen/Test in KOVA-Trol/-Urintransportmedien und 60 Organismen wurden in Tupfertransportmedien getestet. Die Chlamydia- und Neisseria-Organismen wurden im PreservCyt-Lösungsmedium getestet. *C. psittaci* VR601 wurde bei 8,0 x 10^4 Zellen/Assay und *C. psittaci* VR125 wurde bei 1,0 x 10^5 Zellen/Assay getestet. *C. pneumoniae* wurde bei 4,0 x 10^3 Zellen/Assay und *U. urealyticum* wurde bei 6,7 x 10^6 Zellen/Assay getestet. Die Viren wurden wie folgt getestet: (a) Herpes-simplex-Virus I: 2,5 x 10^4 $TCID_{50}$/Assay, (b) Herpes-simplex-Virus II: 6,0 x 10^4 $TCID_{50}$/Assay, (c) Human papillomavirus 16: 2,9 x 10^6 DNA-Kopien/Assay und (d) Cytomegalovirus: 4,8 x 10^5 Zellen/Assay. Die getesteten Organismen sind in Tabelle 11 aufgelistet.

Tabelle 11: Analytische Spezifität

Organismus	Organismus	Organismus
Achromobacter xerosis	*Escherichia coli*	*Neisseria mucosa (3)*
Acinetobacter calcoaceticus	*Flavobacterium meningosepticum*	*Neisseria sicca (3)*
Acinetobacter Iwoffi	*Fusobacterium nucleatum*	*Neisseria subflava (14)*
Actinomyces israelii	*Gardnerella vaginalis*	*Neisseria perflava*
Actinomyces pyogenes	*Gemella haemolysans*	*Neisseria polysaccharea*
Aerococcus viridans	*Haemophilus ducreyi*	*Paracoccus denitrificans*
Aeromonas hydrophila	*Haemophilus influenzae*	*Peptostreptococcus anaerobius*
Agrobacterium radiobacter	Herpes-simplex-Virus I	*Peptostreptococcus productus*
Alcaligenes faecalis	Herpes-simplex-Virus II	*Plesiomonas shigelloides*
Bacillus subtilis	Humanes Papillomavirus 16	*Propionibacterium acnes*
Bacteriodes fragilis	*Kingella dentrificans*	*Proteus mirabilis*
Bacteriodes ureolyticus	Kingella kingae	*Proteus vulgaris*
Bifidobacterium adolescentis	*Klebsiella oxytoca*	*Providencia stuartii*
Bifidobacterium brevi	*Klebsiella pneumoniae*	*Pseudomonas aeruginosa*
Branhamella catarrhalis	*Lactobacillus acidophilus*	*Pseudomonas fluorescens*
Brevibacterium linens	*Lactobacillus brevis*	*Pseudomonas putida*
Campylobacter jejuni	*Lactobacillus jensonii*	*Rahnella aquatilis*
Candida albicans	*Lactobacillus lactis*	*Rhodospirillum rubrum*
Candida glabrata	*Legionella pneumophila (2)*	*Saccharomyces cerevisiae*
Candida parapsilosis	*Leuconostoc paramensenteroides*	*Salmonella minnesota*
Candida tropicalis	*Listeria monocytogenes*	*Salmonella typhimurium*
Chlamydia pneumoniae	*Micrococcus luteus*	*Serratia marcescens*
Chlamydia psittaci (2)	*Moraxella lacunata*	*Staphylococcus saprophyticus*
Chromobacterium violaceum	*Moraxella osloensis*	*Staphylococcus aureus*
Citrobacter freundii	*Morganella morganii*	*Staphylococcus epidermidis*
Clostridium perfringens	*Mycobacterium smegmatis*	*Streptococcus agalactiae*
Corynebacterium genitalium	*Mycoplasma genitalium*	*Streptococcus bovis*
Corynebacterium xerosis	*Mycoplasma hominis*	*Streptococcus mitis*
Cryptococcus neoformans	*N. meningitidis Serogruppe A*	*Streptococcus mutans*
Cytomegalovirus	*N. meningitidis Serogruppe B*	*Streptococcus pneumoniae*
Deinococcus radiodurans	*N. meningitidis Serogruppe C (4)*	*Streptococcus pyogenes*
Derxia gummosa	*N. meningitidis Serogruppe D*	*Streptococcus salivarius*
Eikenella corrodens	*N. meningitidis Serogruppe Y*	*Streptococcus sanguis*
Enterobacter aerogenes	*N. meningitidis Serogruppe W135*	*Streptomyces griseinus*
Enterobacter cloacae	*Neisseria cinerea (4)*	*Trichomonas vaginalis*
Entercoccus avium	*Neisseria dentrificans*	*Ureaplasma urealyticum*
Entercoccus faecalis	*Neisseria elongata (3)*	*Vibrio parahaemolyticus*
Entercoccus faecium	*Neisseria flava*	*Yersinia enterocolitica*
Erwinia herbicola	*Neisseria flavescens (2)*	
Erysipelothrix rhusiopathiae	*Neisseria lactamica (9)*	

(n) = Anzahl der getesteten Stämme.

Alle getesteten Organismen produzierten ein negatives Ergebnis im APTIMA GC Assay.

Interferierende Substanzen

Abstrichproben, Papanicolaou-Abstriche in PreservCyt-Lösung (PreservCyt liquid Pap) und/ oder Urinproben wurden einzeln mit den folgenden interferierenden Substanzen versetzt: 10% Blut, Verhütungsmittel-Gel, Spermizid, Hautcreme, Hämorrhoiden-Anästhetikum, Körperöl, Puder, Pilzsalbe, Scheidengleitmittel, Intimspray und Leukozyten (1,0 x 10^6 Zellen/mL). 30% Blut, Urinanalyte, Protein, Glukose, Ketone, Bilirubin, Nitrat, Urobilinogen, pH 4 (sauer), pH 9 (basisch), Leukozyten (1,0 x 10^6 Zellen/mL), Zellfragmente, Vitamine, Mineralien, Acetaminophen, Aspirin und Ibuprofen. Alle wurden auf potenzielle Testinterferenz bei Abwesenheit und Gegenwart von GC beim geschätzten rRNA-Äquivalent von 50 GC Zellen/ Test (250 fg/Test) getestet. Die rRNA-Äquivalente wurden auf der Grundlage der Genomgröße und des geschätzten DNA:RNA-Verhältnisses/Zelle jedes Organismus berechnet.

Bei keiner der getesteten Substanzen wurde eine Interferenz beobachtet. Keine Amplifikationsinhibitoren wurden im APTIMA GC Assay beobachtet.

Gewinnung

Escherichia coli, Gardnerella vaginalis, *Lactobacillus acidophilus*, *Bacteroides ureolyticus* und *Staphylococcus epidermidis* (1,0 x 10^8 Zellen/Assay) wurden Proben hinzugefügt, die das rRNA-Äquivalent von ca. 50 GC-Zellen (250 fg) enthielten. Durch diese Zusätze ergab sich keine Interferenz der Amplifikation und Nachweis des GC-rRNA mit dem APTIMA GC Assay.

Probenstabilitätsstudien

A. Abstrichproben und Urinproben

Daten zur Belegung der empfohlenen Versand- und Lagerbedingungen für endozervikale, urethrale und vaginale Abstrichproben wurden mit gepoolten negativen Abstrichproben erzeugt. Gepoolten Proben wurde GC mit einer endgültigen Konzentration von ca. 50 CFU pro Reaktion zugesetzt („gespikt“). Die gespikten Proben wurden bei -70 °C, -20 °C, 4 °C und 30 °C gehalten. Die Proben wurden im Doppel an den Tagen 0, 20, 77 und 117 getestet. Alle Testbedingungen waren zu allen Zeiten und Temperaturen positiv für GC.

Die Daten zur Belegung der empfohlenen Versand- und Lagerbedingungen für Urinproben wurden mit weiblichen und männlichen negativen Urinproben erzeugt. Den Urinproben wurde GC mit einer endgültigen Konzentration von 100 CFU pro Reaktion zugesetzt („gespikt“). Die Proben wurden 24 Stunden bei 30 °C belassen, bevor sie dem Urintransportmedium (UTM) hinzugegeben wurden. Die UTM-Proben wurden dann bei 4 °C und 30 °C gehalten und dreifach an den Tagen 1, 14, 32 und 35 getestet. Die UTM-Proben wurden ebenfalls bei -20 °C und -70 °C gehalten und dreifach an den Tagen 1, 35 und 109 getestet. Alle Replikate waren positiv für GC bei den UTM-Proben, die bei 4 °C und -70 °C gehalten wurden. Wenn die UTM-Proben bei 30 °C gehalten wurden, waren 94% der Replikate positiv für GC an Tag 35. Wenn die UTM-Proben bei 20 °C gehalten wurden, waren 98% der Replikate positiv für GC an Tag 109.

B. Papanicolaou-Abstriche in PreservCyt-Lösung (PreservCyt Solution Liquid Pap):

Die Daten zur Belegung der empfohlenen Versand- und Lagerbedingungen für Papanicolaou-Abstriche in PreservCyt-Lösung (PreservCyt Solution liquid Pap) wurden mit den negativen durchgeführten und nicht durchgeführten flüssigen Papanicolaou-Abstrichen (liquid Pap) erzeugt. Für die nicht bearbeiteten Proben wurden vier Pools mit Proben in PreservCyt-Lösung (PreservCyt Solution liquid Pap) getestet, nachdem sie im Cytyc PreservCyt-Lösungsfläschchen gelagert worden waren. Jedes Proben-Pool wurde mit 50 bis 100 CFU GC/Test gespikt, bei 2 °C, 10 °C und 30 °C gehalten und dann an der

Baseline und den Tagen 5, 7, 8, 14, 18, 21, 25 und 36 getestet. Alle gespikten Proben waren zu allen Zeitpunkten und Temperaturen positiv für GC.

Für die bearbeiteten Proben wurden vier Pools mit Proben in PreservCyt-Lösung verwendet, um die Stabilität der bearbeiteten Proben bei 2 °C bis 30 °C zu bestimmen. Jedes negative Proben-Pool wurde mit 50 bis 100 CFU GC/Test gespikt und dann an der Baseline getestet. Vor der Bearbeitung wurden die Proben in PreservCyt-Lösung sieben (7) Tage bei 30 °C gelagert, um den Zeitablauf zwischen der Probenentnahme, der Verarbeitung der Papanicolaou-Abstriche und dem Versand an ein Mikrobiologie-Testlabor zu simulieren. Nach sieben Tagen bei 30 °C wurden 1 mL-Aliquote eines jeden Pools in ein APTIMA-Probentransferröhrchen transferiert und an der Baseline getestet, bevor sie bei 2 °C, 10 °C und 30 °C aufbewahrt wurden. Die bearbeiteten Proben wurden dann 17 Tage bei einer Lagertemperatur von 30 °C und 36 Tage bei einer Lagertemperatur von 2 °C bis 10 °C getestet. Alle gespikten Proben waren zu allen Zeitpunkten und Temperaturen positiv für GC.

Die Daten zur Belegung längerer Lagerbedingungen wurden von vier Pools negativer bearbeiteter Proben in PreservCyt-Lösung, die bei Temperaturen unter dem Gefrierpunkt getestet wurden, erzeugt. Jedes Pool wurde mit 50 bis 100 CFU GC/Test gespikt und dann an der Baseline getestet. Jedes Pool wurde zuerst 14 Tage bei 30 °C aufbewahrt und dann bei -20 °C oder -70 °C im Verlauf von 106 Tagen gelagert. Alle gespikten Proben waren zu allen Zeitpunkten und Temperaturen positiv für GC.

C. Zusätzliche Stabilitätsstudie mit (bei -20 °C) gefrorener Probe

Die Daten zur Belegung der empfohlenen Lagerbedingungen bei -20 °C für endozervikale, urethrale, vaginale Abstriche, weibliche und männliche Urinproben sowie Papanicolaou-Abstriche in PreservCyt-Lösung (PreservCyt Solution liquid Pap) wurden mit 90 Proben für jeden Typ mit negativem Ergebnis erzeugt, wobei 30 Proben mit GC bei 50 CFU pro Reaktion versetzt wurden, 30 Proben mit GC bei 5 CFU pro Reaktion versetzt wurden sowie 30 Proben ohne Zusatz blieben. Alle Proben wurden bei -20 °C gelagert und nach 0, 200 und 400 Tagen getestet. Alle gespikten Proben erfüllten das Annahmekriterium von 95% Übereinstimmung mit den erwarteten Ergebnissen.

Klinische Probenübereinstimmung mit dem TIGRIS DTS System

Übereinstimmung mit dem TIGRIS DTS System

Die Übereinstimmung zwischen den Ergebnissen des APTIMA GC Assays, die mit dem vollautomatischen TIGRIS DTS System und den halbautomatischen DTS-Systemen erzeugt wurden, wurde anhand von Tests von Endozervix-Abstrichproben, männlichen urethralen Abstrichproben, männlichen und weiblichen Urinproben, Vaginalabstrichen und Papanicolaou-Abstrichen in PreservCyt-Lösung (PreservCyt liquid Pap) beurteilt. Jede der klinischen Proben wurde einzeln mit dem APTIMA GC Assay sowohl auf dem TIGRIS DTS System als auch den DTS-Systemen bei Gen-Probe getestet. Die Testreihenfolge war nicht randomisiert. Die zur Inklusion identifizierten Proben wurden auf dem TIGRIS DTS System und im Anschluss daran auf DTS-Systemen getestet.

Studie zur Übereinstimmung der klinischen Proben - Endozervixabstriche, männliche urethrale Abstrichproben, weibliche und männliche Urinproben, Vaginalabstriche und Papanicolaou-Abstriche in PreservCyt-Lösung (PreservCyt Liquid Pap)

Die Probanden und Probandinnen, die zu einer Klinik für Geschlechtskrankheiten (STD), Familienplanung und Frauenheilkunde/Geburtshilfe aus acht geografisch verschiedenen Prüfzentren mit niedriger bis hoher Prävalenz für GC kamen, steuerten Endozervix-Abstrichproben, männliche urethrale Abstrichproben, männliche und weibliche Urinproben, Vaginalabstrichproben und Papanicolaou-Abstriche in PreservCyt-Lösung (PreservCyt liquid Pap) bei. Die Proben wurden zum Testen direkt an Gen-Probe überführt. Bei Gen-Probe wurden die Endozervix-Abstrichproben, männlichen urethralen Abstrichproben, männlichen und weiblichen Urinproben zuerst einem Screening mit dem APTIMA COMBO 2-Assay auf dem TIGRIS DTS System unterzogen. Die Vaginalabstriche und Papanicolaou-Abstriche in PreservCyt-Lösung (PreservCyt liquid Pap) wurden einem Screening mit dem APTIMA COMBO 2-Assay auf den DTS-Systemen unterzogen. Die Proben mit endgültig ungültigen oder unbestimmten Ergebnissen wurden nicht in der klinischen Probenübereinstimmungsstudie mit dem APTIMA GC Assay ausgewählt.

129 weibliche Abstrichproben (70 endozervikal und 59 vaginal), 133 männliche urethrale Abstrichproben, 72 weibliche Urinproben, 130 männliche Urinproben und 51 Papanicolaou-Abstriche in PreservCyt-Lösung (PreservCyt liquid Pap) mit GC-positiven und GC-negativen Ergebnissen aus dem APTIMA COMBO 2-Assay wurden zu Vergleichstests mit dem TIGRIS DTS System und DTS-Systemen für den APTIMA GC Assay ausgewählt. Die Mehrheit der Proben ([88 weibliche Abstrichproben, 93 männliche Abstrichproben, 47 weibliche Urinproben, 70 männliche Urinproben und 34 Papanicolaou-Abstriche in PreservCyt-Lösung (PreservCyt liquid Pap]), die in die Vergleichstests aufgenommen wurden, stammten von symptomatischen Personen. Die Proben mit anfänglich ungültigen oder unbestimmten Ergebnissen wurden mit dem gleichen System erneut getestet, auf dem auch das Ergebnis erzeugt worden war. Drei weibliche Urinproben, eine vaginale Abstrichprobe und eine männliche urethrale Abstrichprobe wiesen auf den DTS-Systemen ein anfänglich unbestimmtes Ergebnis auf; beim Wiederholungstest war das Ergebnis bei allen gültig. Eine männliche und eine weibliche Urinprobe wiesen auf dem TIGRIS DTS System ein anfänglich ungültiges Ergebnis auf; beim Wiederholungstest waren beide Ergebnisse gültig.

Tabelle 12 zeigt die positiven, negativen und Gesamtübereinstimmungen für alle gepaarten Ergebnisse für jeden Probentyp nach symptomatischem Status. Die weiblichen Abstrichproben (endozervikal und vaginal zusammen genommen) weisen ein Ungleichgewicht relativ zu positiven und negativen Proben von symptomatischen Probanden auf, aber die Gesamtübereinstimmung für symptomatische Probanden lag bei 100%, für

asymptomatische Probanden bei 97,6% (40/41), und für „alle“ (symptomatisch und asymptomatisch zusammen genommen) betrug die Gesamtübereinstimmung 99,2% (128/129). Für männliche urethrale Abstrichproben lag die Gesamtübereinstimmung für symptomatische, asymptomatische und „alle“ Probanden bei 100%. Für die weiblichen Urinproben betrug die Gesamtübereinstimmung für symptomatische Probanden 100%, für asymptomatische Probanden 96,0% (24/25) und für „alle“ 98,6% (71/72).

Für die männlichen Urinproben betrug die Gesamtübereinstimmung für symptomatische Probanden 98,6% (69/70), für asymptomatische Probanden 100% und für „alle“ 99,2% (129/130). Für Papanicolaou-Abstriche in PreservCyt-Lösung (PreservCyt liquid Pap) lag die Gesamtübereinstimmung für symptomatische, asymptomatische und „alle“ Probanden bei 100%. Aufgrund der relativ kleineren Anzahl an Proben von asymptomatischen Probanden können diese Ergebnisse möglicherweise nicht für APTIMA GC Assays auf dem TIGRIS DTS System mit Proben von asymptomatischen Probanden verallgemeinert werden.

Siehe Tabelle 4 für Leistungsschätzwerte für den APTIMA GC Assay für endozervikale Abstrichproben, vaginale Abstrichproben, männliche urethrale Abstrichproben und männliche und weibliche Urinproben und Tabelle 5a für Papanicolaou-Abstriche in PreservCyt-Lösung (PreservCyt liquid Pap), die auf den DTS-Systemen getestet wurden. Die klinischen Leistungsschätzwerte für das TIGRIS DTS System mit endozervikalen Abstrichproben, vaginalen Abstrichproben, männlichen urethralen Abstrichproben, männlichen und weiblichen Urinproben und Papanicolaou-Abstriche in PreservCyt-Lösung (PreservCyt liquid Pap) würden angesichts der Übereinstimmungsergebnisse erwartungsgemäß ähnlich sein.

Tabelle 12: Studie zur Übereinstimmung der klinischen Proben: positive, negative und Gesamt-Übereinstimmung nach Symptomstatus

Symptom	Probe	Geschlecht	N	DTS+ TIGRIS+	DTS+ TIGRIS-	DTS- TIGRIS+	DTS- TIGRIS-	Positive % Übereinstimmung (95% V.I.)	Negative % Übereinstimmung (95% V.I.)	% Gesamtübereinstimmung (95% V.I.)
Sympt.	Abstrich	Weiblich*	88	55	0	0	33	100 (93,5-100)	100 (89,4-100)	100 (95,9-100)
		Männlich	93	66	0	0	27	100 (94,6-100)	100 (87,2-100)	100 (96,1-100)
	Urin	Weiblich	47	24	0	0	23	100 (85,8-100)	100 (85,2-100)	100 (92,5-100)
		Männlich	70	60	1	0	9	98,4 (91,2-100)	100 (66,4-100)	98,6 (92,3-100)
	PreservCyt	Weiblich	34	28	0	0	6	100 (87,7-100)	100 (54,1-100)	100 (89,7-100)

„+“ gibt ein positives Ergebnis an, „-“ ein negatives Ergebnis, V.I. = Vertrauensintervall.

*Endozervikale und vaginale Abstrichproben zusammen genommen.

[1]Eine Nichtübereinstimmung bei der vaginalen Abstrichprobe.

Tabelle 12: Studie zur Übereinstimmung der klinischen Proben: positive, negative und Gesamt-Übereinstimmung nach Symptomstatus (Fortsetzung)

Symptom	Probe	Geschlecht	N	DTS+ TIGRIS+	DTS+ TIGRIS-	DTS- TIGRIS+	DTS- TIGRIS-	Positive % Übereinstimmung (95% V.I.)	Negative % Übereinstimmung (95% V.I.)	% Gesamtübereinstimmung (95% V.I.)
Asympt.	Abstrich	Weiblich*	41	23	0	1[1]	17	100 (85,2-100)	94,4 (72,7-99,9)	97,6 (87,1-99,9)
		Männlich	40	7	0	0	33	100 (59,0-100)	100 (89,4-100)	100 91,2-100)
	Urin	Weiblich	25	9	0	1	15	100 (66,4-100)	93,8 (69,8-99,8)	96,0 (79,6-99,9)
		Männlich	60	5	0	0	55	100 (47,8-100)	100 (93,5-100)	100 (94,0-100)
	PreservCyt	Weiblich	17	12	0	0	5	100 (73,5-100)	100 (47,8-100)	100 (80,5-100)
Alle	Abstrich	Weiblich*	129	78	0	1[1]	50	100 (95,4-100)	98,0 (89,6-100)	99,2 (95,8-100)
		Männlich	133	73	0	0	60	100 (95,1-100)	100 (94,0-100)	100 (97,3-100)
	Urin	Weiblich	72	33	0	1	38	100 (89,4-100)	97,4 (86,5-99,9)	98,6 (92,5-100)
		Männlich	130	65	1	0	64	98,5 (91,8-100)	100 (94,4-100)	99,2 (95,8-100)
	PreservCyt	Weiblich	51	40	0	0	11	100 (91,2-100)	100 (71,5-100)	100 (93,0-100)

„+“ gibt ein positives Ergebnis an, „-“ ein negatives Ergebnis, V.I. = Vertrauensintervall.

*Endozervikale und vaginale Abstrichproben zusammen genommen.

[1]Eine Nichtübereinstimmung bei der vaginalen Abstrichprobe.

Präzisionsstudie

Der Effekt verschiedener Faktoren auf die Variabilität der Testleistung des APTIMA GC Assays auf dem TIGRIS DTS System wurde mit 12-Element-STD-Reproduzierbarkeitspanels beurteilt. Die Panelproben enthielten 0 bis 250,000 fg GC-rRNA/Test. Das Panel umfasste Panelproben mit GC Konzentrationen beim analytischen Sensitivitätsanspruch von 250 fg GC-rRNA/Test.

Die Panels wurden in einem externen Testzentrum und bei Gen-Probe unter Einsatz von zwei Reagenzchargen des APTIMA GC Assays getestet. Bei Gen-Probe führten zwei Bediener jeweils drei gültige Arbeitslisten pro Reagenzcharge auf jedem der beiden TIGRIS DTS Systemgeräte aus. Am externen Testzentrum führten zwei Bediener jeweils drei gültige Arbeitslisten pro Reagenzcharge auf einem TIGRIS DTS Systemgerät aus. Eine Arbeitsliste bestand aus Laufkontrollen und sechs 12-Element-Panels. Die Proben mit anfänglich ungültigen oder unbestimmten Ergebnissen aus den gültigen Test-Arbeitslisten wurden nicht wiederholt getestet. 11 Proben wiesen endgültig ungültige Ergebnisse auf und wurden aus den Reproduzierbarkeitsanalysen ausgeschlossen.

Die Reproduzierbarkeit wurde ermittelt, indem die Übereinstimmung zwischen den endgültigen Testergebnissen und dem erwarteten Resultat für jede Panelprobe berechnet wurde. Die Reproduzierbarkeit wurde auch anhand einer Berechnung der SA und des Variationskoeffizienten (VK) des Signals im Hinblick auf Prüfzentren, Bediener, Chargen und Arbeitslisten beurteilt. Für GC-negative Panelproben wurden wegen niedriger Signalwerte, die theoretisch gleich Null sein könnten, keine VK berechnet. Tabelle 13 zeigt die Reproduzierbarkeitsergebnisse auf. Alle Ergebnisse des APTIMA GC Assays auf dem TIGRIS DTS System stimmten mit den erwarteten Ergebnissen für Panelproben mit 0, 250, 25.000 und 250.000 fg GC-rRNA/Test überein. Für Panelproben mit 2500 fg GC-rRNA/Test betrug die Übereinstimmung mit den erwarteten Ergebnissen 99,8%. Die VK-Werte waren kleiner oder gleich 9,0%. Diese Daten zeigen eine gute Reproduzierbarkeit des APTIMA GC Assays bei Verwendung des TIGRIS DTS Systems auf.

Tabelle 13: Präzisionsdaten mit TIGRIS DTS System

Konz. (fg rRNA pro Test)	N	RLU-Mittelwert (x1000)	% Über-einst.	Zwischen Prüfzentren		Zwischen Bedienern		Zwischen Chargen		Zwischen Arbeitslisten		Innerhalb Arbeitslisten	
				SA (x1000)	VK (%)	SA[1] (x1000)	VK (%)	SA (x1000)	VK (%)	SA (x1000)	VK (%)	SA (x1000)	VK (%)
0	859[2]	4.6	100	1,7	NA	0,0	NA	0,3	NA	0,7	NA	2,7	NA
250	429[3]	4148	100	236	5,7	170	4,1	212	5,1	94,9	2,3	222	5,3
2500	429[4]	5361	99,8	275	5,1	145	2,7	273	5,1	25,1	0,5	482	9,0
25.000	430[5]	5871	100	325	5,5	163	2,8	303	5,2	106	1,8	176	3,0
250.000	431[6]	6037	100	317	5,2	167	2,8	303	5,0	126	2,1	186	3,1

Übereinst. = Übereinstimmung, Konz. = Konzentration, VK = Variationskoeffizient, NA = nicht zutreffend für negative Proben, RLU = relative Lichteinheiten, SA = Standardabweichung.

[1] SA- und VK-Werte werden entsprechend dem Zufallseffektmodell jeweils auf 0 und 0.0% gesetzt, wenn die Variabilität aufgrund dieser Quelle relativ zu Zufallsfehlern und/oder Variation anderer Quellen numerisch negativ ist.

[2] 4 Proben wurden aus dieser Analyse wegen endgültig ungültiger Ergebnisse ausgeschlossen. Außerdem fehlte in einer Arbeitsliste je ein Replikat einer GC-negativen Panelprobe.

[3] 3 Proben wurden aus dieser Analyse wegen endgültig ungültiger Ergebnisse ausgeschlossen.

[4] 2 Proben wurden aus dieser Analyse wegen endgültig ungültiger Ergebnisse ausgeschlossen. Außerdem fehlte in zwei Arbeitslisten je ein Replikat einer Panelprobe mit 2500 fg GC-rRNA/Test und eine Arbeitsliste enthielt ein zusätzliches Replikat eines Panelelements mit 2500 fg GC-rRNA/Test.

[5] 2 Proben wurden aus dieser Analyse wegen endgültig ungültiger Ergebnisse ausgeschlossen. Eine Arbeitsliste umfasste ein zusätzliches Replikat einer Panelprobe mit 25.000 fg GC-rRNA/Test. In der gleichen Arbeitsliste fehlte 1 Replikat einer Panelprobe mit 25.000 fg GC-rRNA/Test.

[6] In einer Arbeitsliste fehlte 1 Replikat einer Panelprobe mit 250.000 fg GC-rRNA/Test.

Hinweis: Proben mit ungültigen Testergebnissen wurden ausgeschlossen. Die Analyse der Signalvariabilität umfasste Proben mit widersprüchlichen Ergebnissen.

Analytische Leistung des TIGRIS DTS Systems

Siehe *Analytische Leistung des PANTHER Systems* für die für das PANTHER System spezifische analytische Leistung.

Äquivalenzstudie zur analytischen Sensitivität

Die Sensitivitätspanels im Endozervixabstrich-Pool, Vaginalproben-Pool, Urinproben-Pool und Pool mit Papanicolaou-Abstrichen in PreservCyt-Lösung (PreservCyt liquid Pap) wurden mit GC 250 fg/Test rRNA hergestellt und mit 60 Replikaten auf dem TIGRIS DTS System getestet. Die prozentuale Positivität (95% V.I.) auf dem TIGRIS DTS System für Endozervixabstriche betrug 100% (95,1 - 100), für vaginale Abstrichproben 100% (95,1 - 100), für Urinproben 100% (95,1 - 100) und für Papanicolaou-Abstriche in PreservCyt-Lösung (PreservCyt liquid Pap) 100% (95,1 - 100).

Mit GC-rRNA gespikte klinische Panelstudie

Die mit GC-rRNA gespikte klinische Panelstudie beurteilte die Übereinstimmung zwischen den beiden Systemen unter Einsatz von sechs von Gen-Probe hergestellten klinischen GC-Panels, die mit 0 bis 250.000 fg rRNA/Test von GC gespikt wurden. Die klinischen GC-Panels wurden aus Endozervixabstrichen, Vaginalabstrichen, urethralen Abstrichen, männlichen und weiblichen Urinproben und Papanicolaou-Abstrichen in PreservCyt-Lösung (PreservCyt liquid Pap) hergestellt, die auf den DTS-Systemen im Test bei Gen-Probe negative Ergebnisse im APTIMA GC Assay aufwiesen. Die negativen Proben wurden nach Probentyp gepoolt, entweder mit GC-rRNA gespikt oder nicht und als Replikate einer jeden Panelprobe aliquotiert. Replikate der einzelnen 6-Panelproben mit unterschiedlichen gespikten rRNA-Konzentrationen wurden kombiniert, um ein klinisches Panel für jeden Probentyp zu erstellen. Jedes Panel enthielt insgesamt 132 Replikate.

Die anfänglichen Daten für die männlichen und weiblichen Urinproben zeigen, dass manche Panelproben, die rRNA mit einer Konzentration unter der beanspruchten analytischen Sensitivität enthielten, unerwartete negative Ergebnisse auf dem TIGRIS DTS System erzeugten. Es wurden zwei Anschlussstudien durchgeführt, um die Übereinstimmung mit den erwarteten Ergebnissen aus gespikten männlichen oder weiblichen Urin-Panels nachzuweisen und zu bestätigen. Das ursprüngliche Studiendesign kombinierte negative Proben in einem einzigen Hauptpool. Das Design der Anschlussstudie für männliche und weibliche Urinproben wurde geändert. Die Proben wurden in bestätigte negative Mini-Pools aliquotiert, um die positiven und negativen Panels herzustellen. 138 Replikate wurden für jedes Panel erstellt.

Tabelle 14 zeigt die prozentuale Übereinstimmung für jede rRNA-Konzentration in den Panels für die endozervikale Abstrichprobe, vaginale Abstrichprobe, urethrale Abstrichprobe, männliche und weibliche Urinprobe und Papanicolaou-Abstriche in PreservCyt-Lösung (PreservCyt liquid Pap), jeweils mit den erwarteten GC-Ergebnissen für das TIGRIS DTS System und für die DTS-Systeme. Die Konzentration lag im Bereich von 1 log unterhalb bis 3 log oberhalb des 250 fg rRNA/Test für GC. Tabelle 14 zeigt auch die prozentualen Gesamtübereinstimmungen der klinischen Panelstudie zwischen dem TIGRIS DTS System und den DTS-Systemen.

Tabelle 14: Mit GC-rRNA-gespikte klinische Panel-Übereinstimmungsstudie

Probe		Panelelement	Konzentration (fg rRNA/Test)	Replikate	TIGRIS % Übereinstimmung	DTS % Übereinstimmung	% Gesamtübereinstimmung zwischen TIGRIS und DTS (95% V.I.)
Abstrich	Endozervix	Kein Target	0	12	100	100	100 (97,2-100)
		Sehr niedrig	25	30	100	100	
		Niedrig	250	30	100	100	
		Mittel	2500	30	100	100	
		Hoch	250.000	30	100	100	
	Vaginal	Kein Target	0	12	100	100	100 (97,2-100)
		Sehr niedrig	25	29*	100	100	
		Niedrig	250	30	100	100	
		Mittel	2500	30	100	100	
		Hoch	250.000	30	100	100	
	Urethral	Kein Target	0	12	100	100	100 (97,2-100)
		Sehr niedrig	25	30	100	100	
		Niedrig	250	30	100	100	
		Mittel	2500	30	100	100	
		Hoch	250.000	30	100	100	
Männliche Urinprobe	Erste Studie	Kein Target	0	12	100	100	91,7 (85,6-95,8)
		Sehr niedrig	25	30	63,3 (19/30)	100	
		Niedrig	250	30	100	100	
		Mittel	2500	30	100	100	
		Hoch	250.000	30	100	100	
	Anschluss-studie 1	Kein Target	0	18	100	100	100 (97,4-100)
		Sehr niedrig	25	30	100	100	
		Niedrig	250	30	100	100	
		Mittel	2500	30	100	100	
		Hoch	250.000	30	100	100	
	Anschluss-studie 2	Kein Target	0	18	100	100	100 (97,4-100)
		Sehr niedrig	25	30	100	100	
		Niedrig	250	30	100	100	
		Mittel	2500	30	100	100	
		Hoch	250.000	30	100	100	

*Wegen nicht ausreichender Probenvolumen nicht auf beiden Systemen getestet

Tabelle 14: Mit GC-rRNA-gespikte klinische Panel-Übereinstimmungsstudie (Fortsetzung)

Probe		Panelelement	Konzentration (fg rRNA/Test)	Replikate	TIGRIS % Übereinstimmung	DTS % Übereinstimmung	% Gesamtübereinstimmung zwischen TIGRIS und DTS (95% V.I.)
Weibliche Urinprobe	Erste Studie	Kein Target	0	12	100	100	75,8 (67,5-82,8)
		Sehr niedrig	25	30	13,3 (4/30)	100	
		Niedrig	250	30	80 (24/30)	100	
		Mittel	2500	30	100	100	
		Hoch	250.000	30	100	100	
	Anschlussstudie 1	Kein Target	0	18	100	100	99,3 (96,0-100)
		Sehr niedrig	25	30	96,7 (29/30)	100	
		Niedrig	250	30	100	100	
		Mittel	2500	30	100	100	
		Hoch	250.000	30	100	100	
	Anschlussstudie 2	Kein Target	0	18	100	100	97,8 (93,8-99,5)
		Sehr niedrig	25	30	90 (27/30)	100	
		Niedrig	250	30	100	100	
		Mittel	2500	30	100	100	
		Hoch	250.000	30	100	100	
Papanicolaou-Abstrich in PreservCyt-Lösung (PreservCyt liquid Pap)		Kein Target	0	12	100	100	100 (97,2-100)
		Sehr niedrig	25	30	100	100	
		Niedrig	250	30	100	100	
		Mittel	2500	30	100	100	
		Hoch	250.000	30	100	100	

*Wegen nicht ausreichender Probenvolumen nicht auf beiden Systemen getestet

Äquivalenzstudie zur analytischen Spezifität

Für einen Nukleinsäure-Amplifikationstest wird die analytische Spezifität hinsichtlich einzelner Organismen zum Großteil durch die Chemie des Tests (z. B. Oligonukleodidsequenzen) anstatt durch die Plattform bestimmt. Weil die Reagenzien für den APTIMA GC Assay identisch für das TIGRIS DTS System und die DTS-Systeme sind, wurden die analytischen Spezifitätsversuche auf dem TIGRIS DTS System so konzipiert, dass sie sich auf die Kulturisolate, die die größte Herausforderung darstellen, konzentrieren. Diese Organismen umfassten diejenigen, die bekanntermaßen in anderen Amplifikationstests eine Kreuzreaktion zeigen. 24 Kulturisolate wurden aus dem Panel der Organismen in Tabelle 11 ausgewählt, darunter 17 Organismen, die am nächsten mit GC verwandt sind. Alle getesteten Organismen produzierten negative Ergebnisse, ausgenommen ein (1/648) falsch positives Ergebnis. Das wurde bei *C. pneumoniae* beobachtet, wo 1 von 27 getesten Replikaten ein falsches Ergebnis produzierte. Die Wiederholungstests belegten keine Kreuzreaktivität für diesen Organismus *(C. pneumoniae)*, da bei 6 zusätzlichen Testreplikaten keine positiven Tests beobachtet wurden.

Äquivalenzstudie zu interferierenden Substanzen

Vollblut, eine Substanz, die häufig in urogenitalen Proben vorgefunden wird und die bekanntermaßen in manchen Amplifikationsassays interferierend wirkt, wurde verwendet um festzustellen, dass das TIGRIS DTS System ähnliche Konzentrationen von potenziell interferierenden Substanzen toleriert wie die DTS-Systeme. Frisches Blut wurden den Pools mit klinischen Abstrichproben, Vaginalabstrichproben, Urinproben und Papanicolaou-Abstrichen in PreservCyt-Lösung (PreservCyt liquid Pap) hinzugefügt und dann auf potenzielle Testinterferenz bei Absenz und Präsenz des GC-Targets beim geschätzten rRNA-Äquivalent von 50 GC CFU/Test (250 fg/Test) getestet. Die rRNA-Äquivalente wurden auf der Grundlage der Genomgröße und des geschätzten DNA:RNA-Verhältnisses/Zelle jedes Organismus berechnet. Die Proben wurden auf zwei TIGRIS DTS Systemen getestet. Alle Proben, die Target-Nukleinsäuren enthielten, waren positiv, als sie bei einem Gehalt von 10% Blut in Abstrichproben, Vaginalabstrichproben, Papanicolaou-Abstrichen in PreservCyt-Lösung (PreservCyt liquid Pap) und bei einem Gehalt von 30% Blut in Urinproben getestet wurden. Alle Proben, die kein Target enthielten, waren GC-negativ. Diese Ergebnisse zeigen auf, dass es unwahrscheinlich ist, dass Vollblut bei den getesteten Konzentrationen einen Einfluss auf die GC-Ergebnisse auf dem TIGRIS DTS System hat.

Verschleppungsstudien für das TIGRIS DTS System

Um nachzuweisen, dass das TIGRIS DTS System das Risiko falsch positiver Ergebnisse infolge von Kontamination durch Verschleppung auf ein Mindestmaß beschränkt, wurde eine Studie mit gespikten Panels auf drei TIGRIS DTS Systemen durchgeführt. Die Studie verwendete 20% High-Target-GC-Proben, die 1,0 x 10^9 Zellen/Reaktion enthielten und die im Zufallsverfahren unter 80% negativen Proben, die Tupfertransportmedium enthielten, verteilt wurden. In der Studie wurden 576 High-Target-Proben und 2376 negative Proben auf den drei TIGRIS DTS Systeme getestet. Tabelle 15 zeigt auf, dass die Gesamt-Verschleppungsrate im Durchschnitt bei 0,21% (5/2370) lag. Insgesamt 6 negative Proben wurden als ungültig berichtet und aus der Berechnung ausgeschlossen. Eine separate Analyse wurde an einer Teilmenge der Studienpopulation durchgeführt, die aus den negativen Proben bestand, die sich unmittelbar an ein High-Target-positives Ergebnis anschlossen. Die Verschleppungsrate für diese Teilmenge der Population lag im Durchschnitt bei 0,95% (4/422). Für falsch Positive in dieser Teilmenge lag die Verschleppungsrate im Bereich von 0% bis 2,16% auf den drei TIGRIS DTS Systemen. Diese Ergebnisse zeigen, dass die Kontamination auf dem TIGRIS DTS System auf ein Mindestmaß beschränkt ist.

Tabelle 15: Zusammenfassung der gesamten Verschleppung im TIGRIS DTS System

Gerät	Anz. gültiger negativer Tests	Gesamtanzahl falsch positiver GC-Ergebnisse	% falsch positiver GC-Ergebnisse	Vertrauensintervalle (95% V.I.)
TIGRIS 1	787	0[a]	0,00	0,00 - 0,38
TIGRIS 2	791	1[b]	0,13	0,00 - 0,70
TIGRIS 3	792	4[c]	0,51	0,14 - 0,29
Alle Geräte	2370	5	0,21	0,07 - 0,49

a. TIGRIS DTS System 1 hatte keine falsch positiven GC-Ergebnisse direkt im Anschluss an eine High-Target-positive Probe.

b. TIGRIS DTS System 2 hatte ein falsch positives GC-Ergebnis direkt im Anschluss an eine High-Target-positive Probe.

c. TIGRIS DTS System 3 hatte drei falsch positive GC-Ergebnisse direkt im Anschluss an eine High-Target-positive Probe.

Analytische Leistung des PANTHER Systems

Übereinstimmungsstudie mit einem gespikten klinischen Panel

Einzelne negative Urinproben wurden mit GC gespikt, sodass sich ein Panel mit 120 GC-positiven Proben ergab. Die GC-positiven Panelproben wurden mit Organismen in den Konzentrationen 12,5 CFU/mL, 125 CFU/mL oder 1250 CFU/mL (25 fg/Assay, 250 fg/Assay oder 2500 fg/Assay) gespikt. Darüber hinaus wurden 120 GC-negative Urinproben entnommen. Die positiven und negativen Panels wurden auf drei PANTHER Systemen und drei TIGRIS DTS Systemen getestet. Die positive prozentuale Übereinstimmung zwischen dem PANTHER System und dem TIGRIS DTS System betrug 100% mit einem unteren 95%-Vertrauensintervall von 98,9. Die negative prozentuale Übereinstimmung zwischen dem PANTHER System und dem TIGRIS DTS System betrug 100% mit einem unteren 95%-Vertrauensintervall von 98,9. Die Ergebnisse der Studie sind in Tabelle 16 zusammengefasst.

Tabelle 16: Übereinstimmungsstudie mit einem gespikten klinischen Panel: Übereinstimmung mit erwarteten GC-Ergebnissen

Panelelement	Konzentration		Replikate	TIGRIS % Übereinstimmung	PANTHER Übereinstimmung
	CFU/mL	fg/Assay			
Sehr niedrig positiv	12,5	25	117	100	100
Niedrig positiv	125	250	120	100	100
Mittel positiv	1250	2500	120	100	100
Negativ	0	0	360	100	100

Positive prozentuale Gesamt-Übereinstimmung zwischen TIGRIS DTS System und PANTHER System (95% V.I.): 100% (98,9–100).

Negative prozentuale Gesamt-Übereinstimmung zwischen TIGRIS DTS System und PANTHER System (95% V.I.): 100% (98,9–100).

Studie zur analytischen Spezifität

Die analytische Sensitivität des APTIMA GC Assays wurde mithilfe von drei Matrices aus repräsentativen Proben geprüft. Dabei handelte es sich um mit Urintransportmedium (UTM) bearbeiteten Urin, mit Tupfertransportmedium (STM) verdünnte PreservCyt-Lösung (PreservCyt liquid Pap) sowie STM. Pools dieser drei Matrices wurden bei den folgenden Konzentrationen mit GC-rRNA versetzt: 25 fg/Assay, 250 fg/Assay und 2500 fg/Assay (rRNA-äquivalent zu 12,5 CFU/mL, 125 CFU/mL oder 1250 CFU/mL). Die rRNA-Äquivalente wurden auf der Grundlage der Genomgröße und des geschätzten DNA:RNA-Verhältnisses/Zelle jedes Organismus berechnet. Diese Panels wurden auf drei PANTHER Geräten unter Verwendung von zwei Reagenzienchargen in 96 Replikaten getestet. Die positive Übereinstimmung mit dem erwarteten Ergebnis wurde berechnet. Die Übereinstimmung mit den erwarteten Ergebnissen betrug 100% (95% V.I. 96,2–100%) für alle Urin-Panels, 100% (95% V.I. 96,2–100%) für alle PreservCyt-Lösung-Panels und 100% (95% V.I. 96,1–100%) für alle STM-Panels. Die analytische Sensitivität für den Assay beträgt 125 CFU/mL.

Reproduzierbarkeitsstudie

Die Präzision des APTIMA GC Assays wurde über drei PANTHER Systeme, zwei Kitchargen des APTIMA GC Assays und einen Zeitraum von 24 Tagen hinweg beurteilt. Die Panels wurden hergestellt, indem STM bei den in Tabelle 17 gezeigten Konzentrationen mit GC-rRNA versetzt wurde. Die Bediener führten zwei Durchläufe pro Tag durch, wobei jede Panelprobe in zwei Replikaten pro Durchlauf analysiert wurde. Die Übereinstimmung mit dem erwarteten Ergebnis wurde berechnet und die Präzision wurde gemäß den NCCLS Guidelines EP5-A2 (14) geschätzt. Die Gesamtzahl der Replikate für jedes Panel betrug 96. Tabelle 17 stellt die RLU-Präzisionsdaten nach Mittelwert, Standardabweichung, Variationskoeffizient (VK) und prozentualer Übereinstimmung mit den erwarteten Ergebnissen für die Berechnung der Variabilität zwischen Geräten, zwischen Chargen, zwischen Läufen sowie innerhalb eines Laufs dar.

Tabelle 17: PANTHER System Präzision für den APTIMA GC Assay

Matrix	GC (CFU/mL)	N	RLU-Mittelwert (x1000)	% Übereinst.	Zwischen Geräten		Zwischen Chargen		Zwischen Läufen		Laufintern		Gesamt	
					SA (x1000)	VK (%)	SA (x1000)	VK (%)	SA (x1000)	VK (%)	SA (x1000)	VK (%)	SA (x1000)	VK (%)
STM	0	96	3	100	0	0	0	0	0	0	2,01	72,8	2	72,5
	12.5	96	3951	100	215,14	5,4	0	0	0	0	568,24	14,4	607,6	15,4
	125	95*	5839	100	370,17	6,3	0	0	0	0	772,58	13,2	856,7	14,7
	1250	96	6207	100	338,25	5,4	0	0	0	0	787,64	12,7	857,2	13,8
Urin	0	95*	3	100	0,69	21,6	0,81	25,5	0,77	24,2	2,43	76,3	2,8	87,8
	12.5	96	3460	100	0	0	195,84	5,7	113,27	3,3	207,53	6	307	8,9
	125	96	6047	100	158,67	2,6	170,32	2,8	0	0	206,24	3,4	311	5,1
	1250	96	6737	100	218,35	3,2	238,49	3,5	66,22	1	176,72	2,6	374,4	5,6
PreservCyt	0	95*	6	100	1,9	33,6	0	0	0,54	9,5	5,96	105,2	6,3	111,2
	12.5	96	3358	100	257,9	7,7	0	0	0	0	485,45	14,5	549,7	16,4
	125	96	5272	100	243,09	4,6	201,89	3,8	0	0	751,72	14,3	815,4	15,5
	1250	96	5945	100	355,95	6	51,06	0,9	0	0	759,35	12,8	840,2	14,1

Hinweis: Die Variabilität von einigen Faktoren kann numerisch negativ sein. Das kann auftreten, wenn die durch diese Faktoren bedingte Variabilität sehr klein ist. In diesem Fall gilt SA =0 und VK=0%.

* Die Anzahl n von 95 bezieht sich auf 1 ungültiges Replikat unter 96, das nicht wiederholt wurde.

Analytische Spezifität

Die analytische Spezifität wurde nicht auf dem PANTHER Gerät geprüft. Siehe die *Äquivalenzstudie zur analytischen Spezifität* im Abschnitt *Analytische Leistung des TIGRIS DTS Systems*.

Äquivalenzstudie zu interferierenden Substanzen

Blut, das häufig in Urogenitalproben vorgefunden wird, kann in manchen Amplifikationstests interferierend wirken. Vollblut wurde verwendet, um das Ausmaß der Blutinterferenz auf dem PANTHER System hinsichtlich dieser potenziell interferierenden Substanz zu bestimmen. Frisches Blut wurde klinischen Pools von vaginalen Abstrichproben, nachbearbeiteten Papanicolaou-Abstrichen in PreservCyt-Lösung (PreservCyt Solution liquid Pap) und Urinproben hinzugesetzt. Dann wurden sie auf potenzielle Assayinterferenz in Abwesenheit und Gegenwart von GC-Target getestet. Das geschätzte rRNA-Äquivalent von 125 GC CFU/mL (250 fg/Assay) wurde als Zielkonzentration verwendet, da diese die analytische Sensitivität des Assays darstellt. Die Proben wurden auf dem PANTHER System getestet.

Alle Proben, die Target-Nukleinsäuren enthielten, waren positiv, als sie bei einem Gehalt von 10% (Vol.-%) Blut in Abstrichproben, Vaginalabstrichproben, nachbehandelten Papanicolaou-Abstrichen in PreservCyt-Lösung (PreservCyt Solution liquid Pap) und bei einem Gehalt von 30% (Vol.-%) Blut in Urinproben getestet wurden. Alle Proben, die kein Target enthielten, wurden korrekt als negativ identifiziert. Diese Ergebnisse sind identisch mit denen, die für die das TIGRIS DTS System aufgezeigt wurden, wenn die Proben mit den gleichen Blutmengen versetzt wurden. Blut, das Abstrichproben, Papanicolaou-Abstrichen in PreservCyt-Lösung (PreservCyt Solution liquid Pap) und Urinproben in viel größeren Mengen hinzugesetzt wurde, als sie bei der normalen Probenentnahme erwartet würden, zeigte keine interferierende Wirkung auf die Ergebnisse mit dem PANTHER System.

Verschleppungsstudien für das PANTHER System

Um nachzuweisen, dass das PANTHER System das Risiko falsch positiver Ergebnisse infolge von Kontamination auf ein Mindestmaß beschränkt, wurde eine Analysestudie über mehrere Tage mit gespikten Panels auf drei PANTHER Systemen durchgeführt. Die Verschleppung wurde beurteilt, indem etwa 20% Proben mit hohem GC-Titer zwischen negative Proben gestellt wurden. Es wurden Durchläufe sowohl mit Ansammlungen hoch positiver Proben und Ansammlungen negativer Proben als auch mit einzelnen, im Durchlauf nach einem bestimmten Muster verteilten hoch positiven Proben durchgeführt. Die Proben mit hohem Titer wurden hergestellt, indem STM mit GC-rRNA bei einer Endkonzentration von 5×10^5 fg rRNA/Reaktion (rRNA-Äquivalent zu $2{,}5 \times 10^5$ CFU/mL) versetzt wurde. Die Tests erfolgten anhand von jeweils 5 Durchläufen auf drei PANTHER Systemen mit insgesamt 2923 negativen Proben. Die Gesamtverschleppungsrate betrug 0% bei einem 95%-Vertrauensintervall von 0–0,1%. Insgesamt 17 negative Proben aus Läufen mit hohem Titer wurden als ungültig berichtet und aus der Berechnung ausgeschlossen.

Literatur

1. **Centers for Disease Control and Prevention**. 2002. Screening Tests to Detect *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* infections. United States Morbid. and Mortal. Weekly Rep. **51** (RR-15).
2. **Centers for Disease Control and Prevention.** 2011. *Sexually Transmitted Disease Surveillance 2010*. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services. November.
3. **Ching, S., H. Lee, E. W. Hook, III, M. R. Jacobs, and J. Zenilman.** 1995. Ligase chain reaction for detection of *Neisseria gonorrhoeae* in urogenital swabs. J. Clin. Microbiol. **33**:3111-3114.
4. **Chong, S., D. Jang, X. Song, J. Mahony, A. Petrick, P. Barriga, and M. Chernesky.** 2003. Specimen Processing and Concentration of *Chlamydia trachomatis* Added Can Influence False-Negative Rates in the LCx Assay but Not in the APTIMA Combo 2 Assay When Testing for Inhibitors. J. Clin. Microbiol. **41**:778-782.
5. **CUMITECH 31**. Verification and Validation of Procedures in the Clinical Microbiology Laboratory.- ASM PRESS, FEBRUARY 1997.
6. **Farrel, D. J.** 1999. Evaluation of AMPLICOR *Neisseria gonorrhoeae* PCR using cppB nested PCR and 16S rRNA PCR. J. Clin. Microbiol. **37**:386-390.
7. **Gaydos, C. A., T. C. Quinn, D. Willis, A. Weissfeld, E. W. Hook, D. H. Martin, D. V. Ferraro, and J. Schachter.** 2003. Performance of the APTIMA Combo 2 Assay for Detection of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* in Female Urine and Endocervical Swab Specimens. J. Clin. Microbiol. **41**:304-309.
8. **Holmes, K. K., H. H. Handsfield, S. P. Wang, B. B. Wentworth, M. Turck, J. B. Anderson, and E. R. Alexander**. 1975. Etiology of nongonococcal urethritis. NEJM **292**:1199-1205.
9. **Hook III, E. W. and H. H. Handsfield.** 1999. Gonococcal Infections in the Adult. p. 458. In K. Holmes et. al. (eds.) Sexually Transmitted Diseases. McGraw Hill, New York, N.Y.
10. **Krauss, S. J., R. C. Geller, G. H. Perkins, and D. L. Rhoden.** 1976. Interference of *Neisseria gonorrhoeae* growth by other bacterial species. J. Clin. Microbiol. 4:288-295.
11. **Masi, A. T., and B. I. Eisenstein.** 1981. Disseminated Gonococcal Infections (DGI) and Gonococcal Arthritis (GCA): II Clinical Manifestations, Diagnosis, Complications, Treatment and Prevention. Semin. Arthritis Rheum. **10**:173.
12. **National Committee for Clinical Laboratory Standards.** 1999. NCCLS EP5-A. Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices; Approved Guideline (Vol. 19, No. 2).
13. **National Committee for Clinical Laboratory Standards.** 2002. NCCLS EP12-A. User Protocol for Evaluation of Qualitative Test Performance; Approved Guideline for additional guidance on appropriate internal quality control testing practices.

14. **National Committee for Clinical Laboratory Standards.** 2004. NCCLS EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods: Approved Guideline (2nd edition, Vol. 24, No. 25).
15. **Peterson E. M., V. Darrow, J. Blanding, S. Aarnaes, and L. M. de La Maza.** 1997. Reproducibility problems with the AMPLICOR PCR *Chlamydia trachomatis* test, J. Clin. Microbiol. **35**:957-959.
16. **Schachter, J.** 1985. Chlamydiae (Psittacosis-Lymphogranuloma Venereum-Trachoma group), p. 856-862. *In* E. H. Lennette, et al. (ed.), Manual of Clinical Microbiology, 4th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
17. **Schachter, J., and M. Grossman.** 1981. Chlamydial infections. Ann. Rev. Med. **32**:45-61.
18. **Schachter, J.** 1978. Medical progress: chlamydial infections (third of three parts). NEJM **298**:540-549.
19. **Schachter, J., E. C. Hill, E. B. King, V. R. Coleman, P. Jones, and K. F. Meyer.** 1975. Chlamydial infection in women with cervical dysplasia. Am. J. Obstet. Gynecol. **123**:753-757.
20. **Stary, A., E. Schuh, M. Kerschbaumer, B. Gotz, and H. Lee**. 1998. Performance of transcription-mediated amplification and Ligase chain reaction assays for detection of chlamydial infection in urogenital samples obtained by invasive and noninvasive methods. J. Clin. Microbiol. **36**:2666-2670.
21. **Toye, B., W. Woods, M. Bobrowska, and K. Ramotar.** 1998. Inhibition of PCR in genital and urine specimens submitted for *Chlamydia trachomatis* testing. J. Clin. Microbiol. **36**:2356-2358.
22. **Verkooyen, R. P., A. Luijendijk, W. M. Huisman, W. H. F. Goessens, J. A. J. W. Kluytmans, J. H. Rijsoort-Vos, and H. A. Verbrugh.** 1996. Detection of PCR inhibitors in cervical specimens by using the AMPLICOR *Chlamydia trachomatis* assay. J. Clin. Microbiol. **34**:3072-3074.
23. **Vincelette, J., J. Schirm, M. Bogard, A. Bourgault, D. Luijt, A. Bianchi, P. C. Van Voorst Vader, A. Butcher, and M. Rosenstraus.** 1999. Multicenter evaluation of the fully automated COBAS AMPLICOR PCR test for detection of *Chlamydia trachomatis* in urogenital specimens. J. Clin. Microbiol. **37**:74-80.

Gen-Probe Incorporated
San Diego, CA 92121

US- und internationale Kontaktinformationen:

Kundendienst:	+1 858 410 8002 customerservice@gen-probe.com
Technischer Kundendienst	+1 858 410 8511 technicalsupport@gen-probe.com

Gebührenfreie Nummern für Anrufe aus USA und Kanada:

Kundendienst:	+1 800 523 5001
Technischer Kundendienst	+1 888 484 4747

www.gen-probe.com

EC REP

EMERGO EUROPE
Molenstraat 15
2513 BH Den Haag
Niederlande

CE

GEN-PROBE, GEN-PROBE und das Design, APTIMA, APTIMA und das Design, APTIMA COMBO 2, DTS, LEADER, PANTHER, SB100 und TIGRIS sind Marken von Gen-Probe Incorporated.

eppendorf (stilisiert) und REPEATER sind Marken der Eppendorf AG.

PRESERVCYT und THINPREP sind Marken der Hologic, Inc.

KOVA-TROL ist eine Marke von Hycor Biomedical, Inc.

RAININ ist eine Marke von Rainin Instrument, LLC.

TECAN und FREEDOM EVO sind Markennamen der Tecan Group AG.

Alle anderen Markennamen, die möglicherweise in dieser Packungsbeilage erscheinen, sind das Eigentum ihrer jeweiligen Besitzer.

© 2003–2013 Gen-Probe Incorporated

502185DE Rev. E
2013-05